FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOCHIMIQUE DE LA GLUCOSAMINE

# THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la
Faculté Mixte de Médecine et Pharmacie de Marseille

Le Février 1970

par

**Jean-Marc TEBOUL**

né le 17 Décembre 1943 à Neuilly

**PHARMACIEN - DIPLOME DE PHYTOPHARMACIE**
**INTERNE DE L'HOPITAL St JOSEPH - PARIS**

pour obtenir le Grade de DOCTEUR d'UNIVERSITE :
mention Pharmacie

| | | |
|---|---|---|
| Examinateurs de la Thèse | M. le Professeur C. DUMAZERT, Président,<br>MM. les Professeurs :<br>J. MERCIER<br>R. BARET<br>C. GHIGLIONE | assesseurs |

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545823_0010

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOCHIMIQUE DE LA GLUCOSAMINE

# THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la
Faculté Mixte de Médecine et Pharmacie de Marseille

Le Février 1970

par

**Jean-Marc TEBOUL**

né le 17 Décembre 1943 à Neuilly

**PHARMACIEN - DIPLOME DE PHYTOPHARMACIE**
**INTERNE DE L'HOPITAL St JOSEPH - PARIS**

pour obtenir le Grade de DOCTEUR d'UNIVERSITE :
mention Pharmacie

Examinateurs de la Thèse

M. le Professeur C. DUMAZERT, Président,

MM. les Professeurs :

J. MERCIER
R. BARET
C. GHIGLIONE

assesseurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

# PERSONNEL ADMINISTRATIF

*Doyen :* H. GASTAUT

*Doyen honoraire :* G. MORIN

*Assesseurs :* Ch. GREBUS, J. CHARPIN et R. DEPIEDS

*Attaché Principal, Chef des services administratifs :* P. MOUCHET

# PERSONNEL ENSEIGNANT

## Professeurs honoraires

MM. MONGES, ROCHE, CHAUVIN, MATTEI, De VERNEJOUL, GIRAUD, MERCIER, MARONNEAUD, VIGNOLI, PIERI

## Professeurs titulaires de chaire

| | |
|---|---|
| *Anatomie* | MM. GRISOLI |
| *Anatomie appliquée et Chirurgie expérimentale* | HENRY |
| *Anatomie pathologique* | GASTAUT |
| *Bactériologie et Virologie* | BRAHIC |
| *Biochimie médicale* | LISSITZKY |
| *Botanique et Cryptogamie* | PELLISSIER |
| *Chimie* | DUMAZERT |
| *Chimie analytique et hydrologie* | PASTOR |
| *Chimie biologique* | DERRIEN |
| *Chimie biologique* | REYNAUD |
| *Chimie minérale* | MOURGUE |
| *Clinique cardiologique et cardiologie expérimentale* | JOUVE |
| *Clinique chirurgicale* | CARCASSONNE |
| *Clinique chirurgicale* | LAMY |
| *Clinique chirurgicale* | LENA |
| *Clinique chirurgicale infantile et orthopédie* | SALMON |
| *Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice de l'adulte* | TRIFAUD |
| *Clinique de chirurgie thoracique* | DOR |
| *Clinique dermatologique* | HADIDA |
| *Clinique d'endocrinologie* | VAGUE |
| *Clinique exotique* | BLANC |
| *Clinique médicale* | SIMONIN |
| *Clinique médicale* | AUDIER |
| *Clinique médicale thérapeutique et des maladies du sang* | OLMER |
| *Clinique des maladies infectieuses* | RAYBAUD |
| *Clinique des maladies des voies digestives et de la nutrition* | MONGES H. |
| *Clinique médicale infantile* | BERNARD R. |
| *Clinique de neurologie* | BOUDOURESQUES |
| *Clinique neuro-chirurgicale* | PAILLAS |

| | |
|---|---|
| *Clinique obstétricale et gynécologique* | MM. SERMENT |
| *Clinique ophtalmologique* | JAYLE |
| *Clinique oto-rhino-laryngologique* | APPAIX |
| *Clinique pneumo-phtisiologique* | CHARPIN |
| *Clinique psychiatrique* | SUTTER |
| *Clinique rhumatologique* | RECORDIER |
| *Clinique stomatologique* | LACHARD |
| *Clinique urologique* | DUCASSOU |
| *Electroradiologie* | LEGRE |
| *Histologie et Embryologie* | PICARD |
| *Histologie et Embryologie* | STAHL |
| *Hygiène et médecine sociale* | SAUTET |
| *Médecine expérimentale* | DONNET |
| *Médecine légale et médecine du travail* | MOSINGER |
| *Parasitologie* | RANQUE |
| *Pathologie chirurgicale* | GRANJON |
| *Pathologie interne* | MOUREN |
| *Pharmacie chimique et législation pharmaceutique* | CRISTAU |
| *Pharmacie galénique et matière médicale* | BERNARD P. |
| *Pharmacologie pharmaceutique* | MERCIER J. |
| *Physiologie* | MORIN |
| *Physiopathologie des voies respiratoires* | LAVAL |
| *Physique* | DUBOULOZ |
| *Physique médicale* | ROUX |
| *Séméiologie médicale* | MONGIN |
| *Séméiologie chirurgicale* | DEVIN |
| *Thérapeutique* | GERARD |
| *Toxicologie* | VIALA |
| *Zoologie et microbiologie* | GREBUS |

## Professeurs titulaires à titre personnel

| | |
|---|---|
| *Ophtalmologie* | MM. FARNARIER |
| *Chirurgie thoracique et chirurgie du cœur* | HOUEL |
| *Chirurgie générale* | IMBERT |
| *Anatomie pathologique* | LAFFARGUE |
| *Pédiatrie* | ORSINI |
| *Anatomie pathologique* | PAYAN |
| *Chirurgie* | SERAFINO |
| *Microbiologie* | TAMALET |
| *Oto-rhino-laryngologie* | TISSIE |
| *Immunologie* | DEPIEDS |
| *Pharmacologie* | BOUYARD |
| *Dermato-Vénéréologie* | TEMIME |
| *Médecine générale* | SARLES |

## Professeurs sans chaire

MM. DESANTI, GEVAUDAN, CORRIOL, BARET, JULLIEN, DALMAS, TOGA, CARCASSONNE M., DUMON, GASCARD, MURATORE, ZWIRN, GHIGLIONE, CREVAT, LANZA M., ARDISSON, CHEVROT, NICOLI, PLASSE, SALAMON,

## Maîtres de conférences agrégés

MM. ACHARD
ARNOUX A.
BATTESTI
BERNARD P.M.
BIMAR
BONNEAU
BOUYALA
BUISSON
BUREAU
CLAUSTRE
CODACCIONI
COMBALBERT
COURBIER
CREMIEUX
DELMONT
DOR
FRANÇOIS
FOURNIER
GARCIN
GAUTHIER
GAYTE-SORBIER
GIRAUD F.
GOUEZO
MM. GRIMAUD
GUERINEL
HUGUET
IMBERT Paul
Mme JOUVE
MM. KAPHAN
LOUCHET
MONTIES
PRIVAT
RAYBAUD
REGLI
RICHAUD
RICHELME
ROLLAND
SARACCO
SEDAN
SEITE
SOULAYROL
SOYFER
SPITALIER
TARANGER
TATOSSIAN
VITRY

## Agrégés en exercice

MM. BREMOND
BRICOT
CARCASSONNE Y.
CASANOVA
COIGNET
MM. JEAN
MICHOTEY
MONGES André
RUF

## Agrégés libres

MM. BERARD
BERTHIER
BOURRET
CHAUVIN
COMITI
DEVIN
MM. FIGARELLA
GAMBARELLI
GARES
OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI
REBOUD

A MA MERE

A MON PERE

A TOUTE MA FAMILLE

A mon Maître et Président de Jury

M. le Professeur C. DUMAZERT

*Qui nous a accueilli dans son laboratoire avec tant de générosité et nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre plus vive reconnaissance.*

A mon Jury de thèse

M. le Professeur J. MERCIER

*Dont nous avons apprécié, au cours de nos années d'études, sa grande érudition jointe à un humour qui nous faisait aimer son enseignement si vivant.*

*Nous le remercions vivement de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail.*

M. le Professeur BARET

*Qui a bien voulu juger notre travail.*

*Nous le remercions vivement de l'honneur qu'il nous fait en siégeant dans notre jury.*

M. le Professeur GHIGLIONE

*Qui a été à l'origine de notre venue à la Faculté de Marseille. Il nous a intégré au sein du laboratoire et a su nous donner le goût du travail d'équipe, toujours avec bonne humeur.*

*Nous tenons à lui exprimer notre respectueuse reconnaissance.*

A M. VOVAN Luu, Docteur en Médecine, Docteur ès Sciences, Docteur en Pharmacie, Assistant des Hôpitaux

*Il m'a guidé dans mes recherches, sans jamais compter ni son temps ni sa peine et m'a toujours été de bon conseil.*

*Qu'il soit assuré de mes plus vifs remerciements et qu'il trouve ici l'expression de mon profond attachement.*

A M. ITIE Robert, Pharmacien, Interne des Hôpitaux

*Merci de tout cœur pour ton aide efficace dans la réalisation de ce travail.*

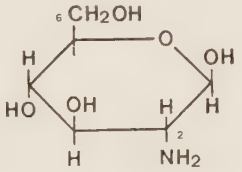
*Je profite de cette occasion pour t'assurer de ma sincère amitié.*

A TOUS MES AMIS

# INTRODUCTION

## I. — CHIMIE DE LA GLUCOSAMINE

Le glucosamine est un hexose aminé répondant à la formule suivante :




C'est l'amino-2-glucose. Sous la forme du polymère de son dérivé N-acétylglucosamine, elle constitue la chitine des carapaces des Insectes et des Crustacés. C'est à partir de la chitine que la glucosamine est préparée.

### A. — PRÉPARATION DE LA GLUCOSAMINE

Des carapaces de crustacés sont grossièrement concassées puis traitées longuement à froid, par de l'acide chlorhydrique à 10 p. 100 jusqu'à décomposition complète des carbonates. On se débarrasse ensuite des débris protéiques par plusieurs macérations dans une lessive de soude à 10 p. 100. Enfin on lave abondamment à l'eau puis on dessèche le résidu qui est de la chitine presque pure. Celle-ci est alors hydrolysée par l'acide chlorhydrique concentré à l'ébullition, pendant 3 ou 4 heures. On dilue alors la liqueur noirâtre avec de l'eau distillée et on décolore par le noir animal. A partir de cet instant DUMAZERT (11) préconise d'opérer ainsi :

évaporer la liqueur décolorée à sec, sous pression réduite. Le résidu est arrosé d'alcool absolu ; porter à l'ébullition, laisser refroidir, filtrer. L'alcool entraîne presque toutes les impuretés et il reste une masse cristalline de chlorhydrate de glucosamine brut. On purifie ce corps en le redissolvant dans une très faible quantité d'eau distillée, puis on ajoute de l'alcool jusqu'à l'apparition d'un trouble léger et persistant. En ajoutant peu à peu de l'alcool fort, on obtient de très beaux cristaux de chlorhydrate de glusocamine très purs dont la teneur en azote atteint la teneur théorique. Le rendement obtenu par DUMAZERT est de 8,82 p. 100 à partir des carapaces sèches de *Carcinus moenas* et de 12 p. 100 à partir des carapaces sèches de *Maia equinado*.

## B. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Le chlorhydrate de glucosamine est une poudre cristalline très soluble dans l'eau. Son pouvoir rotatoire en solution aqueuse est de $[\alpha]_D = + 72°$, quand la mutarotation est terminée.

## C. — PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

La glucosamine donne la même osazone que le glucose et réduit la liqueur de Fehling. Cet amino-hexose offre plusieurs possibilités réactionnelles : son oxydation est particulièrement étudiée soit en milieu neutre, ou en milieu acide, soit en milieu alcalin.

### 1°) Oxydation en milieu neutre ou acide

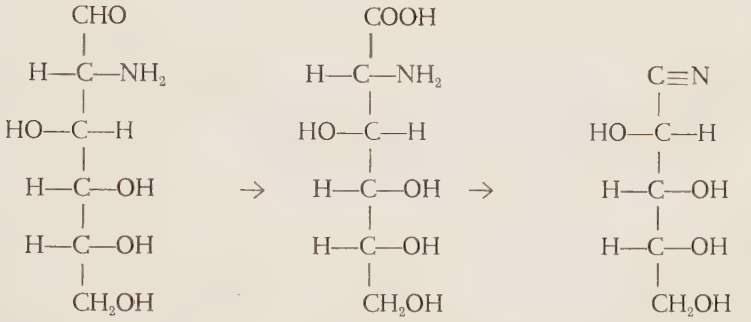
L'oxydation par le brome, (FISCHER, 14) et l'oxyde de mercure (RUSHMANN, PRINGSHIEM, 29) entraîne la formation d'acide glucosaminique en assez grandes proportions. Mais d'autres produits se forment en même temps. Ce sont des composés réduisant la liqueur de Fehling ou donnant la réaction à la naphtorésorcine chlorhydrique (réaction de Tollens).

### 2°) Oxydation en milieu alcalin

L'oxydation des aminohexoses en milieu alcalin a fait l'objet de nombreux travaux. Une étude détaillée des diverses modalités d'oxydation de la glucosamine a été faite par DUMAZERT et LEHR (10).

Il ressort de cette étude que l'oxydation par les halogènes en milieu alcalin conduit à l'obtention soit de l'aldéhyde, soit du nitrile correspondant, suivant la quantité d'oxydant mise en œuvre.

Dumazert et Lehr (10) ont été amenés par la suite à étudier l'oxydation de cet hexosamine par l'iode en milieu alcalin et à froid, d'après le schéma suivant :




Glucosamine — Ac. glucosaminique — Cyanhydrine de l'érythrose

Soit globalement :

$$C_6H_{11}O_5.NH_2 + 6\ I + H_2O \rightarrow C_4H_9O_4CN + CO_2 + 6\ HI$$

Ils constatent qu'une molécule de glucosamine réclame six atomes d'iode pour être complètement oxydée en milieu alcalin. Au cours de cette oxydation ils n'ont pas pu mettre en évidence la formation d'ammoniaque, ce qui exclut la possibilité d'une réaction de désamination. L'azote demeure fixé sur la molécule finale sous la forme de nitrile. Enfin les dosages d'acide carbonique se sont montrés en accord avec une décarboxylation qu'implique l'adoption du schéma ci-dessus.

### 3°) Stabilité de la glucosamine en solution aqueuse

Dumazert et Marquet (12) ont étudié la stabilité de la glucosamine en solution aqueuse à différents pH et ont montré que ce composé subit une dégradation chimique non négligeable et d'autant plus marquée que le milieu est plus alcalin (au bout de 72 heures de la mise en solution dans 100 ml de soude 0,1 N, la disparition de 100 mg de glucosamine est complète). La disparition de la réaction colorée de la glucosamine simultanément à celle de son pouvoir réducteur vis-à-vis de l'iode, laisse penser à des modifications profondes de l'hexosamine sous l'action des ions $OH^-$. La fonction aldéhyde est détruite et on note une désamination partielle intéressant le tiers environ de la glucosamine décomposée.

### 4°) Réactions analytiques

Les principales réactions analytiques de la glucosamine sont les suivantes :

*a*) La glucosamine se condense avec l'acétylacétone en milieu alcalin et donne un dérivé pyrrolique qui fournit une coloration rouge avec le réactif d'Erlich en solution alcoolochlorhydrique (para-diméthyl-aminobenzaldéhyde). Cette réaction proposée par Elson et Morgan (13) est à la base des méthodes de dosage de la glucosamine.

*b*) La formation d'ester benzoïque à partir de la glucosamine.

*c*) La glucosamine sous la forme N-acétylée peut être identifiée par chromatographie sur papier Whatman n° 1, solvant acétate d'éthyle - pyridine - eau (6 : 4 : 3 v/v), révélation par le réactif de Morgan et Elson (26).

### 5°) Dosage de la glucosamine

Le principe de ce dosage réside dans la colorimétrie de la coloration rouge issue de la réaction de Elson et Morgan. A la suite des travaux de Sorensen (35) relatifs à l'influence du pH sur la réaction de condensation entre la glucosamine et l'acétylacétone, Dumazert et Marquet (12) ont apporté quelques modifications à la technique originelle d'Elson et Morgan, en opérant en milieu fortement tamponné grâce à un réactif à base de phosphates di- et tri-sodique.

La technique ainsi modifiée se recommande par une plus grande fidélité pour une précision équivalente.

## II. — BIOCHIMIE DE LA GLUCOSAMINE

### A. — RÉPARTITION DE LA GLUCOSAMINE DANS LA NATURE

Pendant 70 ans, la glucosamine fut considérée comme le seul sucre aminé des plantes, microorganismes et invertébrés, malgré la découverte par LEVENE et LA FORGE en 1914 de la galactosamine dans les tissus des mammifères. Ce n'est qu'en 1954 que DAVIES met en évidence cette dernière osamine dans les microorganismes. Depuis cette date un certain nombre d'autres osamines furent retrouvés chez les animaux et les végétaux supérieurs.

Néanmoins, la glucosamine reste l'élément prépondérant de tous les osamines, tant par sa forte proportion que par son importance dans le métabolisme.

1°) Chez les microorganismes, elle entre dans la constitution des glucoprotéines, support de la membrane de la plupart des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus* en est dépourvu) et de celle des spores. On la trouve dans un antigène de nature polysaccharidique isolé à partir d'une préparation de tuberculine issue de *Mycobacterium Tuberculosis* (KENT, 1951, 20).

2°) Chez les Végétaux inférieurs (algues), sa présence est exceptionnelle. FRANK, LEFORT et MARTIN (1962, 15) la signalent dans les membranes cellulaires des algues *Phormidium uncinatum* où la glucosamine est associée à l'acide muramique.

3°) Chez les Végétaux supérieurs, la glucosamine est isolée à partir des betteraves à sucre (MARIANI, 1952, 24) et de l'hydrolysat purifié des germes de soja (WADA, PALLANSCH et LIENER, 1958, 39). L'UDP-N-acétylglucosamine est identifiée dans les germes de *Phaseolus aureus* par SOLMS et HASSID en 1957 (34) et par GRÉGOIRE et VOVAN en 1963 (18) en compagnie de l'UDP-N-acétylgalactosamine. C'est également sous cette forme que la glucosamine est reconnue dans les tubercules de dahlia (GONZALES et PONTIS, 1963, cité par GRÉGOIRE et VOVAN, 18).

4°) Chez les Invertébrés, la glucosamine est présente dans la chitine essentiellement, mais aussi dans d'autres polysaccharides non chitineux et dans de nombreuses glucoprotéines. Burson et coll. (1956,, 4) isolent un principe anticoagulant : polysaccharide-sulfate dans la constitution duquel entrent la glucosamine et l'acide glycuronique, à partir de *Spimla* (*Maetra*) *solidissima* et *Cyprina* (*artica*) *islandica*.

La glucosamine est également isolée de la réaction protéique de l'hémolymphe de crabe (*cancer pagurus*) par Roche et Dumazert (1939, 31).

5°) Chez les Mammifères, tous les organes renferment de la glucosamine, soit à l'état libre, soit sous forme de dérivés méthylés, soit incorporée dans les nucléotides conjugués, soit enfin dans la constitution des molécules complexes : glucoprotéines, polyholosides et mucopolysaccharides.

Néanmoins, c'est dans le foie, siège des principales réactions enzymatiques et de biosynthèse, que la teneur en hexosamine est la plus élevée.

## B. — BIOSYNTHÈSE DE LA GLUCOSAMINE

1°) Origine de la copule carbonée. — La plupart des osamines possèdent une structure commune : le 2-amino-2-désoxyaldohexose. Ceci suggère deux hypothèses en ce qui concerne la biosynthèse de la glucosamine.

*a*) Le précurseur peut être un hydrate de carbone ou le glucose. Il se condense avec un composé aminé tel que la sérine ou un de ses dérivés.

*b*) La glucosamine peut résulter de l'amination directe d'un hexose ou d'un hexose activé.

Grâce à l'apport isotopique la question a pu être tranchée. Becker et Day (1953, 1) étudiant la synthèse de la glucosamine dans le sérum de Rat, utilisent comme précurseur la glucose-1.$C^{14}$ et le glucosone-1-$C^{14}$. Quatre-vingt-dix pour cent de ces hydrates de carbone ont été retenus pour la biosynthèse de la glucosamine ; la consommation du glucosone est plus élevée que celle du glucose. Ces auteurs ont conclu que la chaîne carbonée ne subit pas de clivage et que la biosynthèse de la glucosamine pourrait se faire selon le processus suivant :

$$\text{glucose} \xrightarrow{\text{oxydation}} \text{glucosone} \xrightarrow{\text{transamination}} \text{glucosamine.}$$

Topper et Lipton (1953, 38) utilisent les streptocoques hémolytiques du groupe A pour étudier cette biosynthèse en incorporant le glucose 1-$C^{14}$. Ils sont arrivés à la même conclusion. Par la suite ces données ont été confirmées par Rosemand et coll. (32) et par Dorfman et coll. (7) qui démontrent en outre que la glucosamine marquée au $C^{14}$ et à l'azote $N^{15}$ est incorporée sans désamination dans l'acide hyaluronique et que les acides aminés tels que la sérine ne paraissent pas jouer un rôle essentiel dans la biosynthèse de la glucosamine.

Spiro en 1959 (36) montre chez le Rat que la capacité de conversion du glucose en hexosamine varie énormément d'un tissu à l'autre et que cette conversion se fait directement sans formation intermédiaire de triose. Par ailleurs, la biosynthèse des glucoprotéines se fait principalement dans le foie.

2°) Origine du groupement aminé. — Selon Rieder (30), il semble que le groupement aminé provient plus de l'ammoniaque que des acides aminés. Par contre, Lowther et Rogers (22) montrent chez les Streptocoques hémolytiques du groupe A, grâce à l'utilisation des substances marquées à l'azote $N^{15}$, que la biosynthèse de l'acide hyaluronique est possible à partir du glucose et de la L-glutamine si le milieu de culture renferme du phosphate inorganique ($P_i$) et de l'ion magnésium. Ces auteurs pensent que la L-glutamine est seul précurseur du groupement aminé des hexosamines.

3°) Réaction de biosynthèse. — Ces notions conduisent Leloir et Cardini (21) à proposer la réaction suivante (réaction I) :

(I) Hexose-6-P + L-glutamine → glucosamine-6-P + ac. L-glutamique.

La nature de l'hexose-6-phosphate n'a pu être fixée par ces auteurs. Etudiant la réaction enzymatique chez *Neurospora crassa* et chez *Escherichia coli*, Blumenthal (3), Roseman et coll. (33), Glisk et coll. (17) indiquent que l'enzyme qui intervient dans la réaction de biosynthèse de l'hexosamine est spécifique du fructose-6-phosphate. Il est complètement inactif lorsque le substrat est constitué par le glucose-6-phosphate.

Il en résulte que la biosynthèse de la glucosamine se fait à partir du fructose-6-phosphate (précurseur de la copule hydrocarbonée) et de la L-glutamine (donateur du groupement aminé). La réaction I proposée par Leloir et Cardini s'écrit en définitive selon la réaction II :

(II) Fructose-6-P + L-glutamine → glucosamine-6-P + ac. L-glutamique.

## C. — DÉGRADATION DE LA GLUCOSAMINE

Au cours de l'étude biologique de la glucosamine, on a déterminé à plusieurs reprises que la glucosamine n'est pas fermentescible sous l'action de la levure. Mitzimana Imaizumi (25) constate que l'acide glucosaminique et la L-glucosamine donnent en présence des colibacilles, de l'acide lactique et de l'acide succinique. Une étude intéressante de Mme Lutwack Mann (23) sur le comportement des sucres aminés, sous l'action enzymatique des tissus animaux, des levures et des bactéries conduit aux principaux résultats suivants : il existe dans certains tissus (rein, testicule, cerveau, ovaire, rétine), chez les bactéries et la levure, un enzyme spécifique de pH optimum 7,4 à 7,8 capable de dégrader la glucosamine. Par contre, le foie, le muscle, l'intestin, la rate, les hématies se sont montrés inactifs. Parmi les produits de dégradation, cet auteur n'a trouvé aucun des acides acétique, lactique ou succinique, pas plus que de corps aldéhydes ou cétoniques. On assite, par contre, à la libération d'une certaine quantité d'ammoniaque provenant de la désamination de la glucosamine.

Dumazert et Marquet (12) montrent que les purées de muscles sont capables de dégrader la glucosamine grâce à la glucosaminase dont l'activité n'apparaît qu'à la suite d'un temps suffisant d'autolyse (14 heures). Par ailleurs, l'autolyse prolongée outre mesure (20 heures ou plus) a pour résultat l'inactivation ou la destruction du même système enzymatique. L'enzyme ainsi mis en évidence dans le muscle, provoque une désamination complète de la glucosamine. Il n'en est pas de même de la levure de bière, qui est active d'une façon presque immédiate mais qui ne réalise que la désamination des deux tiers de la glucosamine dégradée.

## D. — ROLE BIOLOGIQUE DE LA GLUCOSAMINE

La présence de la glucosamine a été signalée, nous l'avons vu, dans la majorité des groupements prosthétiques glucidiques.

Cependant elle réagit souvent indépendamment des autres glucides qui l'accompagnent et d'une façon bien spécifique. Nous représentons sur le schéma n° 1 les principales modalités d'incorporation de la glucosamine dans les substances d'une très grande importance biologique.

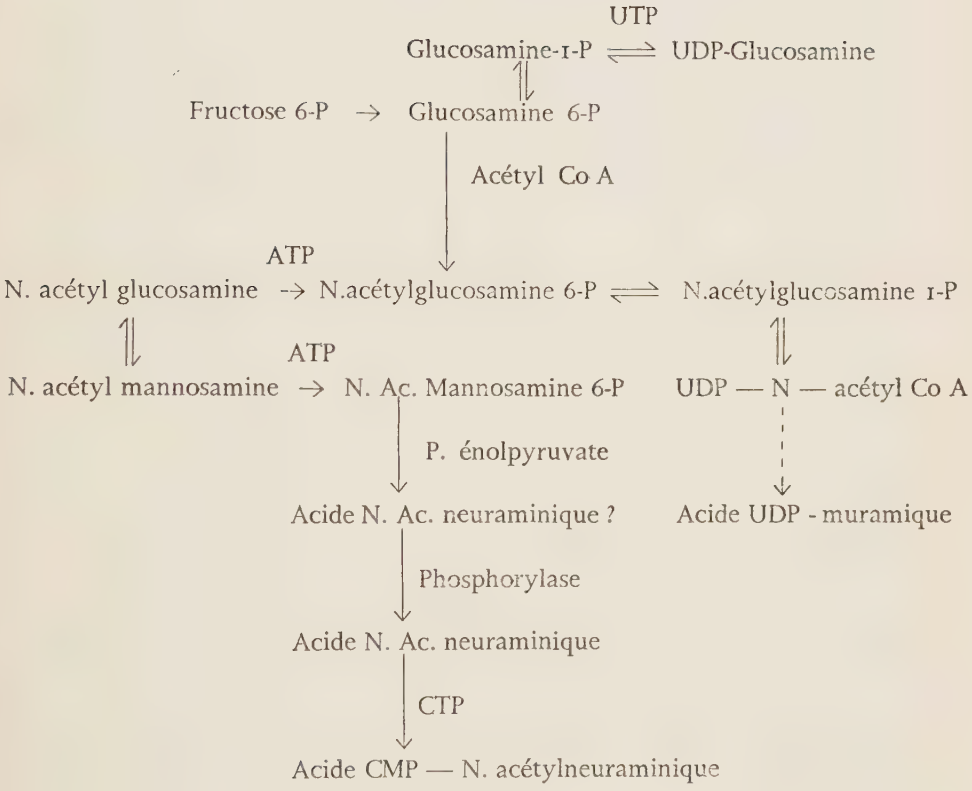



Schéma 1. Réactions de biosynthèse intéressant l'incorporation de la glucosamine.

Les réactions de biosynthèse font intervenir obligatoirement les enzymes : *a*) l'enzyme qui intervient dans la transformation de la glucosamine en dérivé N-acétylé a été étudié par Leloir et Cardini en 1953 (21), puis par Davidson et coll. (6), par Pattabiraman et coll. en 1961 (27). Cet enzyme, l'hexosamine phosphate-N-acétylase, se trouve dans de nombreux tissus : foie, rate ; *b*) la transformation de l'hexosamine en hexosamine-1-phosphate fait intervenir une kinase ; *c*) la synthèse de l'héparine semble conditionnée par la présence de l'uridine-diphosphate-N-acétyl galactosamine dont la formation se fait grâce à une pyrophosphorylase, apparemment indépendante de l'UDP-glucose-pyrophosphorylase ; *d*) enfin l'incorporation de l'acide neuraminique dans les glucoprotéines exige la présence d'un nucléotide conjugué : la cytidine-monophosphate-N-acétylneuraminique.

En ce qui concerne le rôle biologique proprement dit de la glucosamine, le problème est plus complexe. La diversité de sa répartition est sans doute une des causes de la variété des travaux dont elle a été l'objet. Nous examinerons les recherches intéressant le sang puis le tissu hépatique sous deux aspects : aspect physiologique et aspect pathologique.

### 1°) Glucosamine dans le sang

La glucosamine ne se trouve dans le sang que dans la fraction fortement combinée des glucoprotéines et des glucosaminoglucanes plasmatiques.

Des études effectuées par West, Clark et Kennedy (40) portant sur 180 sérums sanguins, il ressort que le taux normal de la glucosamine chez l'adulte varie de 76 mg à 110 mg pour 100 ml de sérum et que ce taux est beaucoup plus bas chez le nouveau-né. Ces auteurs ont observé une élévation de ce taux dans les infections, les affections malignes et chez les sujets porteurs d'infarctus stériles : Bierry (2) a étudié les variations quantitatives et qualitatives du « sucre protéique » total dans le diabète. Cependant, il ne pouvait tirer aucune conclusion du taux de la glucosamine dont les variations paraissent assez anarchiques. A la suite d'une intéressante étude sur les malades atteints de néphrite, Bierry constate que dans le complexe glucidique, il peut se produire une modification sélective du groupe mannose-galactose d'une part, de la glucosamine d'autre part. Des travaux récents permettent de confirmer les données de Bierry et de West et coll. C'est ainsi que le taux des glucoprotéines sériques peut augmenter jusqu'à 130 à 150 mg pour 100 ml de sérum dans les diabètes sucré et rénal, dans les leucoses aiguë et chronique, dans le lymphosarcome, dans la maladie de Hodgkin. Ce taux dépasse même 200 mg dans les autres formes de cancer et dans la tuberculose évolutive (2, 40).

Dans les érythrocytes, les hexosamines entrent dans la constitution des sphingoglucolipides : hématoside, globoside, et ganglioside. L'hématoside isolé des hématies de chat renferme deux molécules d'acide neuraminique. Par contre le globoside isolé du sang humain ne renferme pas d'acide neuraminique, mais de la N-acétyl-glucosamine. YACHNIN et GARDNER (41) observent une élévation sensible du taux d'acide neuraminique des hématies chez les malades atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne ou d'anémie hémolytique acquise. Chez les diabétiques, par contre, HILKER (19) note une diminution du taux d'hexosamine dans les hématies.

### 2°) Glucosamine dans le foie

..*a*) A l'état libre, le taux de glucosamine dans le tissu hépatique est de 40 mg pour 100 g de tissu chez le Rat, 408 mg chez le Lapin et 405 mg chez le Cobaye (37).

*b*) Sous la forme activée par l'intermédiaire d'un nucléotide conjugué, l'uridine-diphosphate-N-acétylglucosamine (UDP-N-acétyl GA), la glucosamine représente 15 micromoles pour 100 g de tissu chez le Cobaye, 44 micromoles chez le Rat et chez l'Homme adulte. C'est principalement sous cette forme que la glucosamine intervient dans les réactions métaboliques dans le foie.

*c*) Comme constituant de l'acide neuraminique : la teneur en acide neuraminique est d'environ 16 mg pour 100 g de tissu hépatique chez l'Homme et de 27 mg chez le Rat.

Chez l'Homme, au cours des affections telles que les dyslipoïdoses (amyloïdose, gargoylisme, maladie de Tay-Sachs) et la fibrose hépatique, cette teneur subit des variations notables.

Notons enfin que, dans le foie, la glucosamine et la N-acétyl-glucosamine exercent une inhibition compétitive sur l'utilisation du glucose (SPIRO, 37).

## E. — PHARMACODYNAMIE DE LA GLUCOSAMINE

Si le rôle biologique de la glucosamine a fait l'objet de nombreux travaux, ses actions pharmacodynamiques sont peu connues. Il en est de même des substances dans la constitution desquelles l'hexosamine entre pour une grande part, hormis l'héparine, dont on connaît les applications thérapeutiques.

Des expériences faites sur les rats blancs, il ressort que des quantités considérables de sucre aminé peuvent être injectées sans entraîner aucun changement net dans l'excrétion de l'azote ammoniacal. Dans une autre série d'expériences, l'effet de la glucosamine a été recherché sur des rats carencés en vitamine $B_2$. Mais aucun résultat n'a été noté.

Administrée par voie orale, la glucosamine possède une action sur les crampes insuliniques, alors qu'elle est inactive lorsqu'elle est donnée en injection sous-cutanée.

L'action pharmacodynamique et l'utilisation thérapeutique de l'héparine sont, par contre, bien connues et bien étudiées. Nous savons que l'héparine est un anticoagulant efficace. Elle intervient en outre sur le métabolisme des lipides par son action générale de dispersion qui se manifeste sur les éléments figurés du sang, sur les protéines et sur les lipoprotéines.

*
* *

Au terme de cette étude des données bibliographiques relatives à la glucosamine, nous pouvons noter la multitude et la complexité de ses réactions chimiques et biologiques. Les renseignements intéressants que nous pouvons en dégager sont les suivants :

1°) La glucosamine est préparée à partir de la chitine des carapaces des crustacés sous forme de chlorhydrate. Ce sont de beaux cristaux blancs, solubles dans l'eau.

2°) Son oxydation en milieu neutre ou acide entraîne la formation d'acide glucosamique et d'autres produits réduisant la liqueur de Fehling. En milieu alcalin, l'oxydation par les halogènes conduit à l'obtention soit de l'aldéhyde, soit du nitrile correspondant, suivant la quantité d'oxydant mise en œuvre.

3°) La glucosamine se condense avec l'acétylacétone en milieu alcalin et donne un dérivé pyrrolique qui fournit une coloration rouge avec le para-diméthyl-amino-benzaldéhyde en solution alcoolo-chlorhydrique. Cette réaction proposée par Elson et Morgan est à la base des techniques de dosage de la glucosamine dont celle proposée par Dumazert et coll. opérant en milieu tamponné se recommande par une plus grande fidélité.

4°) La glucosamine est très répandue dans la nature, soit à l'état libre, soit sous forme de dérivés méthylés, soit incorporée dans les nucléotides conjugués, soit entrant dans la constitution des molécules complexes : glucoprotéines, polyholosides, mucopolysaccharides.

5°) C'est dans le foie, siège des principales réactions enzymatiques que la glucosamine se trouve en grande quantité.

6°) Dans le sang et dans le foie, le taux de glucosamine (libre ou combinée) subit des variations notables au cours des affections diverses : infections, diabètes, tumeurs malignes, leucoses.

7°) On sait peu de choses sur l'activité pharmacodynamique de la glucosamine.

# OBJET DU TRAVAIL

Nous nous sommes proposé dans ce travail de rechercher les actions pharmacologiques de la glucosamine.

Après avoir décrit dans le premier chapitre les modalités d'expérimentation ainsi que les techniques analytiques utilisées dans ce travail, nous étudierons dans le deuxième chapitre l'action lipotrope de la glucosamine, seule ou associée avec la bétaïne.

Dans le troisième chapitre, nous examinerons l'action hyperglobulinisante de la glucosamine. Cette étude est conduite chez le Rat et chez le Lapin.

Certaines constatations obtenues au cours de cette étude nous conduisent à décrire l'action anorexigène de cet hexosamine chez le Lapin.

Enfin, dans un essai d'interprétation des résultats obtenus, nous dégagerons les principaux résultats auxquels nos expériences nous ont permis d'aboutir.

# TRAVAUX PERSONNELS

## CHAPITRE PREMIER

# PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL ET TECHNIQUES UTILISÉES

## I. — MATÉRIEL D'ÉTUDE

Nos expériences sont réalisées chez le Rat albinos de souche Wistar de notre élevage. Leur poids varie entre 300 et 380 g.

Ils sont répartis par groupe de six.

Certaines expériences sont effectuées sur le Lapin « Fauve de Bourgogne » d'un poids moyen de 3 000 g.

## II. — RÉGIME ALIMENTAIRE

### A. — RAT

1°) Le régime équilibré synthétique a la composition suivante :

| | |
|---|---|
| Caséine | 14 g |
| Saccharose | 30 g |
| Amidon | 30 g |
| Huile végétale | 5 g |
| Mélange salin d'Osborne * | 4 g |

* Mélange salin d'Osborne : chlorure de sodium : 100 g, phosphate tricalcique : 110 g, citrate de magnésium : 65 g, chlorure de potassium : 15 g ; citrate de fer : 10 g, sulfate de manganèse : 1 g, iode : 0,05 g, iodure de potassium : 0,10 g.

| | |
|---|---|
| Cellulose, q.s.p. ..... | 100 g |
| Mélange vitaminique et | |
| Huile de foie de morue ..... | 1 g |

2°) Le régime stéatogène hyperlipidique, hyperglucidique et hypoprotéique est celui utilisé par GAJDOS (16) auquel nous ajoutons de la cellulose comme élément mécanique de transit.

| | |
|---|---|
| Caséine ..... | 5 g |
| Saccharose ..... | 40 g |
| Graines de saindoux ..... | 44 g |
| Cellulose ..... | 6 g |
| Mélange salin d'Osborne * ..... | 4 g |
| Mélange vitaminique et | |
| Huile de foie de morue ..... | 1 g |

### B. — LAPIN

Les lapins reçoivent une alimentation composée de provendes (aliments pour Lapin U.A.R.).

## III. — TECHNIQUES ANALYTIQUES

### A. — ANALYSES EFFECTUÉES SUR LE SANG

Le sang est recueilli chez le Rat après sacrifice par décapitation de l'animal. On sépare le sérum sur lequel on effectue les déterminations suivantes :

1. Lipides totaux : Les lipides totaux sériques sont dosés par oxydation sulfochromique selon la technique de BANG, rapportée par POLONOVSKI et COLIN (28).

Après extraction par un mélange éther-alcool (1:3), les lipides sont oxydés par un excès de mélange sulfochromique que l'on dose par retour par iodométrie.

Cette technique permet de déterminer de faibles quantités de lipides et par conséquent d'opérer sur une prise d'essai assez faible (0,5 ml).

2. Cholestérol total : Il est dosé par la microméthode de RAPPAPORT modifiée permettant d'opérer sur 0,2 ml de sérum.

Le cholestérol est dosé par spectrophotométrie à partir de la coloration verte développée en présence de l'anhydride acétique et de l'acide sulfosalicylique en milieu sulfurique concentré.

3. Indice néphélémétrique : Il est défini arbitrairement comme étant la densité optique du sérum sanguin déterminée à la longueur d'onde de 660 mμ, traversée optique : 1 cm. Les résultats sont exprimés par comparaison avec un sérum sanguin d'animaux sains.

4. Electrophorèse des lipides sériques : l'électrophorèse des lipides sériques utilisant le papier comme support, permet d'apprécier les fractions lipoprotéiques responsables des variations globales de la lipémie. Elle se fait dans les conditions classiquement connues que nous ne faisons que rappeler :

— papier Whatman n° 1
— sérum déposé : 40 μl
— tampon : véronal-véronal sodique, pH = 8,6 force ionique : 0,1
— durée de migration : six heures sous 200 volts
— coloration par le Noir Soudan B.

La lecture des bandes se fait après enregistrement densitométrique. Les principales fractions sont appréciées par planimétrie.

Par cette méthode on distingue : les α-lipoprotéines qui migrent au niveau des $\alpha_1$-globulines et chevauchent avec les albumines ; les β-lipoprotéines qui migrent souvent d'une manière très étalée et forment parfois une traînée (T) qui s'étend jusqu'à la zone des chylomicrons.

5. Electrophorèse des protéines sériques : Nous avons utilisé la technique d'électrophorèse sur acétate de cellulose.

a) Matériel et réactifs :

— Bandes d'acétate de cellulose (Cellogel Chemetron) de 2,5 × 17 cm. Elles sont conservées dans du méthanol à 50 p. 100.

— Cuve d'électrophorèse comportant un chevalet dont l'écartement des branches est de 11 cm.

— Redresseur de courant.

— Coloration : le bain de colorant est préparé de la manière suivante :

| | |
|---|---|
| amidoschwartz ..... | 0,5 g |
| méthanol ..... | 50 ml |

eau distillée ..... 40 ml
acide acétique ..... 10 ml

— Solution de décoloration :

méthanol ..... 500 ml
eau distillée ..... 450 ml
acide acétique ..... 50 ml

— Bain de transparence :

eau distillée ..... 50 ml
méthanol ..... 37 ml
acide acétique ..... 5 ml
diacétone-alcool ..... 8 ml
glycérol ..... I à II gouttes

b) Mode opératoire : On laisse tremper les bandes d'acétate de cellulose pendant 10 minutes dans la solution tampon. Les bandes sont ensuite essorées entre deux feuilles de papier Whatman n° 1, afin d'éliminer l'excès de tampon. Elles sont alors tendues entre deux arêtes du chevalet.

La quantité de sérum déposée est de 20 µl. La durée de migration est de 120 minutes sous 180 volts.

Les bandes sont trempées pendant 5 minutes dans le bain de colorant. La décoloration des bandes se fait ensuite par trempages successifs dans quatre bains de décoloration (chaque lavage dure 15 à 20 minutes). On laisse ensuite les bandes dans un bain de transparence pendant 5 à 10 minutes. Au bout de ce temps, les bandes sont étalées sur des plaques de verre qu'on porte à l'étuve à une température de 70°C. Après 5 à 10 minutes, les bandes sont séchées et rendues transparentes.

c) Détermination quantitative des différentes fractions : Elle se fait par densitométrie (appareil enregistreur d'extinction « Zeiss ») suivie de la planimétrie des pics obtenus.

6. Dosage des protéines totales sériques : On peut obtenir le taux de protéines totales du sérum sanguin avec une très bonne approximation en déterminant la teneur en azote totale sur 0,1 ml de sérum par la technique microkjeldahl après minéralisation sulfurique en présence de catalyseur Dumazert-Marcellet. Le taux d'azote trouvé sera multiplié par 6,25 pour obtenir le taux de protéines.

7. Dosage de la glycémie : Chez le Rat, la glycémie est dosée sur 0,1 ml de sang total recueilli après section de la queue, par la technique de Hagedorn et Jansen après défécation cadmique selon Dumazert (8).

Chez le Lapin, cette détermination est effectuée sur du sang prélevé sur fluorure de sodium, par la veine marginale de l'oreille.

Deux ml de sang sont prélevés chaque fois. Sur le même prélèvement nous avons pratiqué, outre la glycémie, le dosage des sucres protéiques et des sucres faiblement liés.

8. Sucres protéiques : Depuis les travaux de BIERRY (2) et ceux de DUMAZERT et PENET (9) on sait que le taux de sucres protéiques chez l'Homme normal oscille entre 2,50 g et 2,70 g. Nous savons également qu'au cours de certaines infections, dans le cancer et dans la tuberculose pulmonaire évolutive, le taux de sucre protéique augmente. La glucosamine, prenant une part prépondérante dans la constitution de cette glucidoprotéine, nous nous sommes proposé d'évaluer le taux de sucre protéique dans le sérum de l'animal ayant reçu de la glucosamine. A cet effet, nous avons utilisé la technique codifiée par DUMAZERT et PENET (9) :

Dans un tube à essai de 15 cm de long et muni d'un bec, on introduit 2 ml du réactif suivant :

| | |
|---|---|
| Sulfate de cadmium ..... | 13 g |
| $H_2SO_4$ 2 N ..... | 530,25 ml |
| Eau distillée, q.s.p. ..... | 1 000 ml |

Ce réactif contient à la fois l'acide sulfurique nécessaire à l'hydrolyse et le sulfate de cadmium qui assurera la défécation ultérieure.

On ajoute 0,05 ml de plasma et on porte au bain-marie bouillant pendant 2 heures après avoir agité et bouché le tube à l'aide d'un tampon de coton cardé. On laisse refroidir et on ajoute en agitant 1 ml d'une solution de soude 2,275 normale. Cette solution permet la neutralisation de l'acide introduit pour l'hydrolyse et la précipitation de l'hydrate de cadmium qui assure la déprotéinisation.

On filtre sur papier filtre sans cendre et on lave le précipité à trois reprises avec 3 fois 2 à 3 ml d'eau distillée.

Le filtrat et les eaux de lavage sont recueillis dans un gros tube à centrifuger en vue du dosage des glucides totaux par la méthode de HAGEDORN et JENSEN.

La différence entre la teneur en sucres totaux exprimée en grammes de glucose par litre de plasma, et la glycémie initiale préalablement déterminée représentent la quantité en g/l exprimée en glucose, des glucides réducteurs combinés aux protéines.

9. Sucres « faiblement liés » : Au cours de leur étude sur les glucides du plasma sanguin, DUMAZERT et PENET ont montré l'existence d'une fraction glucidique libérée de sa combinaison par les acides faibles. Cette fraction participe à la glycolyse sanguine. Il s'agirait d'une réserve glucidique immédiatement utilisable dont le taux dans le plasma sanguin est faible (environ 0,35 g chez l'homme).

Sa détermination se fait de la manière suivante : on soumet 0,1 ml de plasma à l'hydrolyse au moyen de 2 ml de la solution au sulfate cadmique utilisée pour la déprotéinisation cadmique au cours du dosage de la glycémie par la méthode de HAGEDORN et JENSEN, et contenant 60,5 ml de solution normale d'acide sulfurique par litre (l'hydrolyse est alors obtenue par une solution d'acide sulfurique 0,0605 N). On porte au bain-marie bouillant pendant 90 minutes. Après refroidissement, on ajoute 1 ml de soude 0,275 N et on dose les sucres réducteurs dans les mêmes conditions que la glycémie. Soient B la quantité de sucres totaux ainsi dosés et A la glycémie de base, la quantité de sucres faiblement liés sera égale à B — A.

## B. - ANALYSES EFFECTUÉES SUR LE TISSU HÉPATIQUE DE RAT

Les foies prélevés après sacrifice des animaux sont pesés. Nous y avons déterminé le taux de lipides totaux et des insaponifiables.

1°) Dosage des lipides totaux : On broie les foies au broyeur « Turmix » en présence d'un volume équivalent d'alcool à 100° ; centrifuger à 4 000 tours/mn pendant 10 minutes pour séparer le sédiment qui sera mis à sécher à l'étuve à 50°C. La phase alcoolique est recueillie dans un bécher.

On introduit le sédiment sec dans la cartouche d'un extracteur Kumagawa puis on procède à l'extraction continue pendant 6 heures par l'alcool absolu. Les extraits alcooliques sont réunis et évaporés à sec sous pression réduite. On reprend le résidu par 5 × 3 ml de chloroforme. L'extrait chloroformique filtré sur papier est recueilli dans une capsule tarée. Sécher jusqu'à poids constant et peser.

La teneur en lipides totaux est exprimée en grammes pour 100 g de foie frais.

2°) Dosage des insaponifiables : On reprend les lipides totaux obtenus au cours de l'opération précédente par 10 ml de chloroforme. Sur une partie aliquote de 5 ml on procède à la saponification au moyen de 25 ml d'une solution 2 N de potasse alcoolique (bain-marie bouillant pendant 30 minutes).

Neutraliser la potasse par l'acide sulfurique 2 N. Les insaponifiables sont extraits par 3 × 20 ml d'éther de pétrole. La solution éthérée est recueillie dans un bécher puis évaporée à 37°C. On reprend le résidu par du chloroforme. L'extrait chloroformique est filtré sur papier et recueilli dans une capsule tarée évaporée jusqu'à poids constant et pesée.

Le taux d'insaponifiable est exprimé en g pour 100 g de foie frais.

CHAPITRE DEUXIEME

# ACTION DE LA GLUCOSAMINE SUR LE BILAN LIPIDIQUE CHEZ LE RAT SOUMIS A UN RÉGIME STÉATOGÈNE

Cette étude comporte trois parties :

1. — Etude en fonction de la dose de glucosamine administrée. Recherche de la dose efficace.

2. — Action antistéatosique de la glucosamine à la dose optimale.

3. — Action comparée avec d'autres substances lipotropes connues.

## I. — RECHERCHE DE LA DOSE EFFICACE DE GLUCOSAMINE

### PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Nous avons utilisé cinq groupes de six rats pesant entre 300 et 400 g. Après les avoir soumis à un jeûne de 24 heures, nous leur donnons le régime stéatogène.

— Un groupe ST ne reçoit pas de glucosamine et sert de témoins.

— Les quatre groupes restant reçoivent quotidiennement par sonde gastrique respectivement 250, 500, 750 et 1 000 mg par kg de poids corporel de chlorhydrate de glucosamine.

L'expérience a duré 21 jours. Au bout de ce temps, les animaux sont pesés puis sacrifiés par décapitation. Nous recueillons le sang de chaque lot et les foies en vue des analyses biologiques dont les modalités techniques ont été exposées dans le chapitre précédent.

Résultats : Les résultats de diverses déterminations biologiques sont consignés dans le tableau I et objectivés par les figures 1, 2, 3 et 4.

Tableau I

**Action de la glucosamine sur le bilan lipidique chez le Rat soumis à une alimentation déséquilibrée stéatogène. Etude en fonction de la dose administrée**

| Glucosamine (mg/kg/j) ..... | ST 0 | 250 | 500 | 750 | 1 000 | Normal |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Perte de poids (%) ..... | — 7,5 | — 5,9 | — 5,4 | — 3,5 | — 0,9 | — |
| **Sérum sanguin** | | | | | | |
| Indice néphélémétrique ..... | 1,16 | 1,08 | 0,48 | 0,79 | 0,92 | 0,45 |
| Lipémie (g/l) ..... | 4,51 | 4,32 | 3,10 | 3,93 | 4,60 | 3,00 |
| Cholestérolémie totale (g/l) .... | 1,06 | 1,02 | 0,94 | 0,99 | 1,06 | 0,90 |
| **Foie** | | | | | | |
| Poids (g/100 g de rat) ..... | 4,27 | 3,02 | 2,77 | 3,14 | 3,66 | 2,81 |
| Lipides totaux (g/100 g de foie) .. | 9,70 | 5,27 | 4,80 | 5,62 | 7,17 | 4,97 |
| Insaponifiables (g/100 g de foie) | 2,86 | 1,38 | 1,02 | 1,50 | 2,50 | 1,02 |

La figure n° 5 représente les enregistrements densitométriques des lipidogrammes déterminés chez chaque groupe d'animaux. Les proportions relatives de chaque fraction lipoprotéique sont groupées dans le tableau II.

Tableau II

**Variations des lipoprotéines sériques chez le Rat sous l'influence de la glucosamine**

| Glucosamine (mg/kg/j) | ST 0 | 250 | 500 | 750 | 1 000 |
|---|---|---|---|---|---|
| α lipoprotéines (%) .. | 29 | 29 | 33 | 32 | 28 |
| β lipoprotéines (%) .. | 59 | 55 | 31 | 60 | 60 |
| T (%) ..... | 12 | 16 | 16 | 8 | 12 |
| β/α ..... | 2,02 | 1,90 | 1,52 | 1,89 | 2,15 |

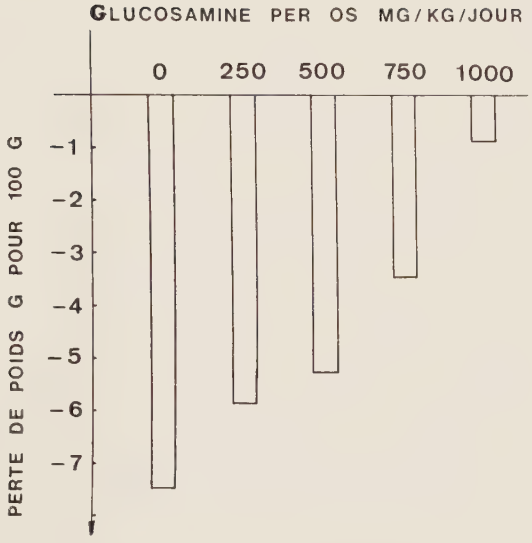



*Figure* 1.

Perte de poids chez le Rat soumis au régime stéatogène et traité par la glucosamine.

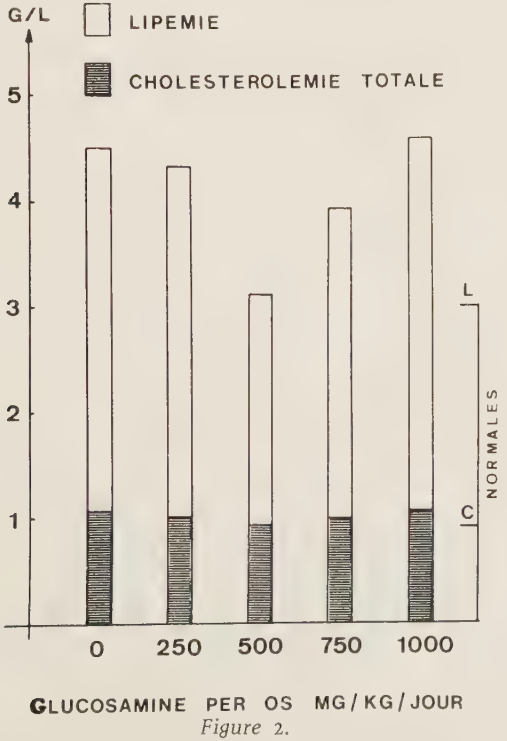



*Figure* 2.

Action de la glucosamine sur la lipémie et la cholestérolémie chez le Rat.

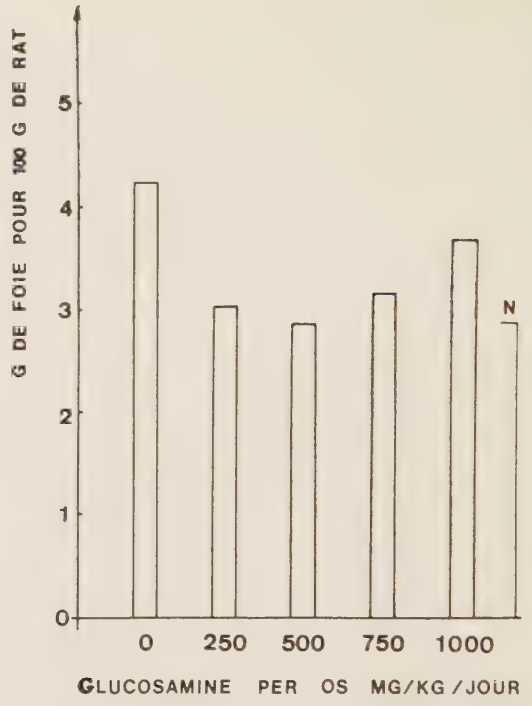



*Figure* 3.
Action de la glucosamine sur le poids de foie de Rat (N = poids normal).

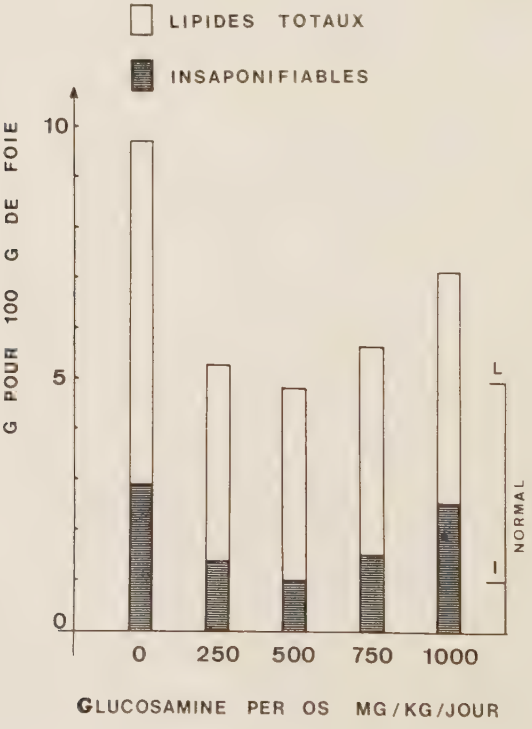



*Figure* 4.
Action de la glucosamine sur les taux des lipides totaux et des insaponifiables du foie de Rat.

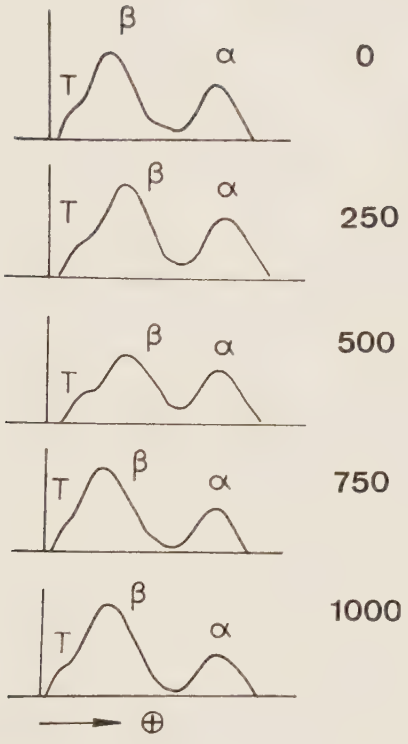



*Figure 5.*

Lipidogrammes sériques de Rats soumis au régime stéatogène.

Action de la glucosamine à différentes doses :

o = Témoins sans traitement
250, 500, 750 et 1 000 = quantité de glucosamine en mg/kg/j administrée par voie orale
β = β-lipoprotéines
α = α-lipoprotéines
T = traînée = chylomicrons

Il ressort de ces résultats que la glucosamine possède une activité lipotrope particulière car l'efficacité n'est pas proportionnelle à la dose administrée. Bien au contraire, il semble exister une dose optimale qui se situe aux environs de 500 mg/kg/j de chlorhydrate de glucosamine. Au-delà de cette dose, l'activité semble s'inverser.

L'action lipotrope se traduit par le bilan biochimique suivant :

1°) Normalisation de la lipémie et de la cholestérolémie.

En effet chez les animaux non traités et soumis au régime stéatogène, la lipémie s'est élevée à 4,51 g/litre alors que la lipémie du Rat normal selon nos expériences est de 3,00 g. Ce chiffre est en accord avec celui donné par J. COTTET et coll. (5) qui ont trouvé 3,28 g de lipides totaux par litre de sérum chez le Rat âgé de 12 mois.

A la dose de 250 mg/kg/j, la lipémie baisse légèrement mais reste à un niveau très pathologique (4,32 g). Les animaux recevant 500 mg/kg/j présentent une lipémie pratiquement normale (3,10 g). Lorsque la dose de glucosamine administrée s'élève, la lipémie augmente et son taux remonte à un niveau pathologique (3,93 g à 750 mg et 4,60 g à 1 000 mg).

La cholestérolémie totale ne varie pas d'une manière aussi nette que la lipémie. On peut toutefois remarquer que la courbe d'évolution de la cholestérolémie en fonction de la dose de glucosamine possède la même allure que celle de la lipémie.

Il est à noter que, comparée à la cholestérolémie de l'Homme, la cholestérolémie du Rat est très basse (quatre fois plus basse que celle de l'Homme selon COTTET et coll. (5).

2°) Le pouvoir clarifiant déterminé par la mesure spectrophotométrique de la densité optique du sérum (indice néphélémétrique) correspond à la lutte contre l'hyperlipémie. Nous avons pu noter l'indice le plus bas chez les animaux ayant reçu 500 mg/kg/j de glucosamine (D.O. = 0,48). Cette densité optique est sensiblement celle trouvée chez les animaux sains.

3°) Le poids du foie : alors que les animaux stéatosiques non traités ou traités par des doses respectivement de 250, 750 et 1 000 mg de glucosamine présentent une hépatomégalie plus ou moins importante, ceux ayant reçu 500 mg/kg/j ont un foie de taille et de poids normaux (2,77 g pour 100 g de Rat vif contre 2,81 g chez les animaux sains).

4°) Les lipides totaux et les insaponifiables du foie : les lipides totaux des foies des Rats traités à la dose de 500 mg/kg/j sont d'une teneur normale alors que la surcharge lipidique du foie correspondant à l'hépatomégalie est observée dans les autres lots d'animaux. Quant aux insaponifiables, leurs variations sont à noter mais sont pour nous difficiles à interpréter. Leurs variations suivent celles des lipides totaux.

5°) Les lipoprotéines : l'étude des lipoprotéines par l'électrophorèse sur papier a donné des résultats significatifs.

Rappelons que le lipidogramme obtenu dans ces conditions permet de distinguer trois fractions principales : — les α-lipoprotéines principale-

ment constituées de phospholipides et de cholestérol, plus riches en phospholipides qu'en cholestérol ; — les β-lipoprotéines plus riches en lipides qu'en protéines et plus riches en cholestérol qu'en phospholipides ; — la traînée T constituée de chylomicrons.

Le rapport entre les β-lipoprotéines et les α-lipoprotéines chez le Rat est différent de celui déterminé chez l'Homme.

Ce rapport β/α est chez le Rat normal, selon nos expériences de 1,40 ± 0,3, tandis que chez l'Homme ce rapport est de 2,5 ± 0,5. L'augmentation de ce rapport est constatée dans les états athéromateux chez l'Homme. L'augmentation des β-lipoprotéines est en rapport avec l'hyperlipémie tandis que leur diminution, ainsi que l'élévation des α-lipoprotéines, signent la lutte contre l'hyperlipémie.

Les lipidogrammes des rats représentés sur la figure n° 5 et les teneurs centésimales des différentes fractions lipoprotéiques montrent que chez les rats ayant reçu la dose de 500 mg/kg/j de glucosamine, le rapport β/α lipoprotéines est le plus bas et se situe dans les limites de la normale tandis que chez les autres groupes d'animaux, ce rapport est très élevé par comparaison avec la normale.

## DISCUSSIONS

L'ensemble de ces résultats montre d'une manière indiscutable le pouvoir lipotrope de la glucosamine lorsqu'elle est administrée par voie orale à la dose de 500 mg/kg/j. Cette action se caractérise chez le Rat soumis à un régime déséquilibré stéatogène par un retour à la normale du syndrome biochimique des surcharges lipidiques.

Néanmoins, il faut souligner le caractère particulier de cette action qui apparemment s'inverse lorsqu'on dépasse la dose optimale.

La glucosamine, nous l'avons vu, est métabolisée dans l'organisme par le principal processus de N-acétylation. Cette réaction fait intervenir l'acétylcoenzyme A comme donateur du groupement acétyl selon :

glucosamine + Acétyl CoA → N.acétylglucosamine + CoASH.

L'action lipido-dispersante de la glucosamine pourrait s'expliquer par le fait que cet hexosamine diminue la teneur en acétylcoenzyme A, abondamment formé au cours des surcharges lipidiques ou glucidiques, et empêcherait la synthèse des acides gras, puis des glycérides.

Il est beaucoup plus difficile d'expliquer l'action inverse lorsque la dose de glucosamine est trop forte. Il est probable qu'il existe deux processus essentiels, l'un lipido-dispersant par l'intermédiaire de la réaction

ci-dessus, l'autre lipido-synthétisant dans lequel la glucosamine semble se métaboliser par conversion initiale en glucose.

Les effets constatés au cours de nos expériences seraient la résultante de ceux découlés de ces deux processus.

Il convient de noter enfin que les pertes de poids chez ces animaux sont inversement proportionnelles à la dose administrée.

## II. — ÉTUDE COMPARÉE DE L'ACTION DE LA GLUCOSAMINE CHEZ LES RATS SOUMIS AU RÉGIME STÉATOGÈNE ET CHEZ LES RATS SAINS

Afin d'apporter quelques arguments à l'hypothèse formulée plus haut, nous avons cherché les effets de la glucosamine sur le syndrome biochimique chez le Rat selon que celui-ci reçoit une alimentation équilibrée ou qu'il est soumis à un régime stéatogène.

Cette étude est conduite sur quatre groupes de six rats. Deux lots reçoivent le régime stéatogène ; les animaux appartenant à un de ces deux lots sont traités par la glucosamine à la dose de 500 mg/kg/jour, per os. Deux autres lots reçoivent un régime équilibré préparé par nos soins (voir Chapitre premier). Les animaux appartenant à un de ces deux lots sont traités par la glucosamine dans les mêmes conditions.

L'expérience a duré trois semaines.

### RESULTATS

Les résultats sont rapportés dans le tableau III.

Tableau III

**Action de la glucosamine sur le métabolisme lipidique chez le Rat**

| Syndrome biochimique | Régime équilibré | | Régime stéatogène | |
|---|---|---|---|---|
| | Non traité | Glucosamine | Non traité | Glucosamine |
| **Sérum sanguin** | | | | |
| Lipémie (g/l) ..... | 3,00 | 3,05 | 4,57 | 3,10 |
| Cholestérolémie totale (g/l) | 0,90 | 1,00 | 1,08 | 0,93 |
| Indice néphélémétrique .... | 0,45 | 0,46 | 1,10 | 0,48 |
| **Foie** | | | | |
| Poids (g/100 g de Rat) .... | 2,81 | 2,77 | 4,37 | 2,77 |
| Lipides totaux (g/100 g de foie) ..... | 4,97 | 4,08 | 9,76 | 4,80 |
| Insaponifiables (g/100 g de foie) ..... | 1,02 | 1,01 | 2,80 | 1,02 |

Ces résultats nous permettent d'établir une comparaison entre le syndrome biochimique du Rat sain et celui du Rat soumis à un régime stéatogène. Ils confirment les données obtenues à l'issue de l'expérience précédente.

En outre, fait important à souligner, la glucosamine à la dose efficace n'exerce une action sur le métabolisme lipidique que lorsque l'animal se trouve dans les conditions nutritionnelles défavorables. Elle est sans action lorsque l'animal est nourri normalement.

Les chiffres consignés dans le tableau III sont très significatifs à cet égard.

## III. — ASSOCIATION DE LA GLUCOSAMINE AVEC LA BÉTAINE

Parmi les facteurs lipotropes connus, la bétaïne et la méthionine sont les plus utilisées en thérapeutique. Leur action se caractérise par une mobilisation des graisses fixes, une facilitation de leur résorption et de leur utilisation et la protection du tissu hépatique de la surcharge lipidique.

Nous avons voulu rechercher une éventuelle potentialisation de l'action lipotrope de la glucosamine en l'associant avec la bétaïne. Cette étude est menée comparativement avec la méthionine.

Quatre groupes de six rats sont soumis au régime stéatogène. Ils sont traités de la manière suivante :

Groupe A : bétaïne 60 mg/kg/j per os.

Groupe B : bétaïne (60 mg) + glucosamine (250 mg).

Groupe C : bétaïne (60 mg) + glucosamine (500 mg).

Groupe D : méthionine 60 mg/kg/jour.

Comme les expériences précédentes, celle-ci a duré trois semaines.

### RESULTATS

Nous consignons dans le tableau IV les résultats obtenus à l'issue de cette expérimentation. Les figures n° 6, 7 et 8 permettent d'objectiver ces résultats.

Tableau IV

**Action de la glucosamine associée à la bétaïne sur le métabolisme lipidique chez le Rat soumis à un régime stéatogène. Etude comparée avec la bétaïne et la méthionine**

| Analyses effectuées | Bétaïne 60 mg/kg/j | Bétaïne 60 mg + glucosamine 250 mg | Bétaïne 60 mg + glucosamine 500 mg | Méthionine 60 mg |
|---|---|---|---|---|
| Variations pondérales .... | — 11,5 % | — 8,6 % | + 1,2 % | — 5,6 % |
| **Sérum sanguin** | | | | |
| Lipémie (g/l) ..... | 3,84 | 3,26 | 3,36 | 2,59 |
| Cholestérolémie (g/l) .... | 1,00 | 0,92 | 0,90 | 0,82 |
| Indice néphélémétrique .. | 0,52 | 0,48 | 0,46 | 0,42 |
| **Foie** | | | | |
| Poids (g/100 g de Rat) .... | 3,72 | 3,87 | 3,70 | 4,29 |
| Lipides totaux (g/100 g de foie) ..... | 5,07 | 4,92 | 4,70 | 7,03 |
| Insaponifiables (g/100 g de foie) ..... | 1,24 | 1,16 | 1,03 | 2,00 |

Il ressort de l'examen de ces résultats que l'association de la glucosamine avec la bétaïne ne conduit pas à une potentialisation de l'action lipotrope de ces deux substances. Les résultats concernant les bilans lipidiques sérique et hépatique n'offrant pas de variations sensibles, sauf en ce qui concerne la lipémie qui passe de 3,84 g/l chez les animaux traités par la bétaïne à 3,26 g/l et 3,36 g/l lorsque la bétaïne est associée à la glucosamine. Il faut noter toutefois que cette lipémie n'atteint pas tout à fait le chiffre normal qui est de 3 g/l.

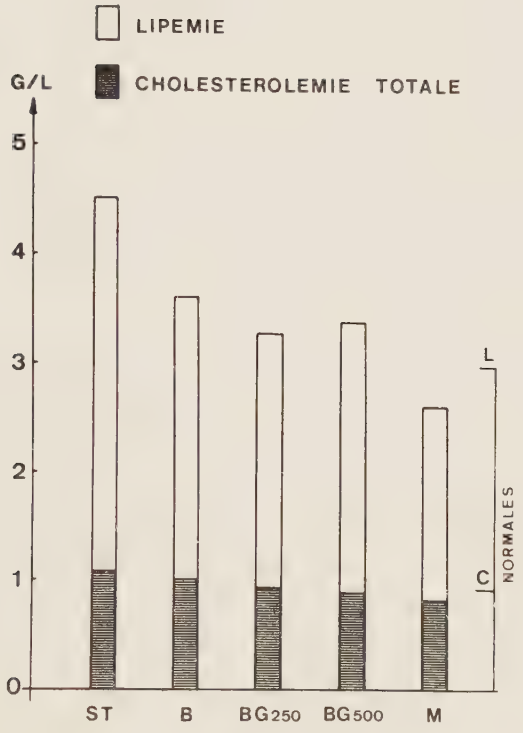



*Figure 6.*

Action de la glucosamine associée à la bétaïne sur la lipémie et la cholestérolémie du Rat soumis à un régime stéatogène.

ST : rats non traités

B : bétaïne per os 60 mg/kg/jour

BG 250 : (bétaïne : 60 mg + glucosamine : 250 mg) par kg et par jour

BG 500 : (bétaïne : 60 mg + glucosamine : 500 mg) par kg et par jour

M : méthionine 60 mg/kg/jour.

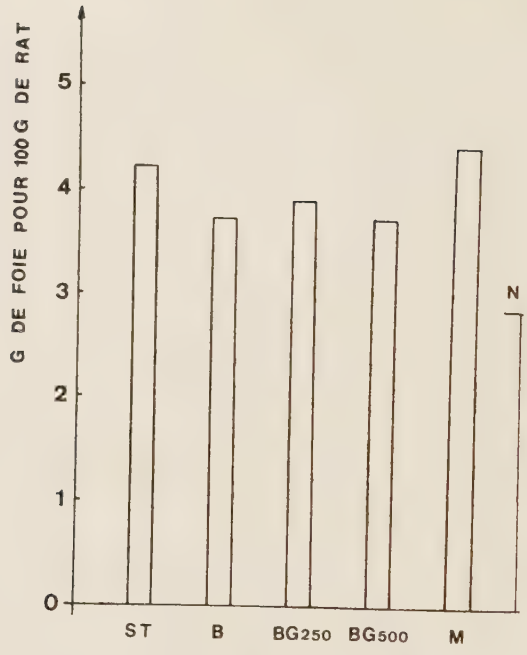



*Figure 7.*

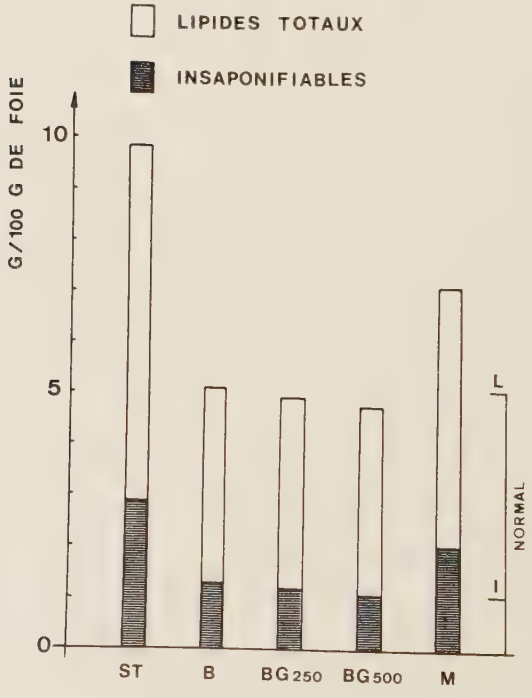



*Figure 8.*

Action de la glucosamine associée à la bétaïne sur le foie de Rat soumis au régime stéatogène.

(Même légende que la figure 6.)

Soulignons que les rats traités par une association bétaïne-glucosamine (60 mg:500 mg) ne présentent pas d'amaigrissement. Bien au contraire, ils ont un léger gain de poids (+ 1,2 p. 100 par rapport au poids initial) en fin d'expérience.

## IV. — CONCLUSIONS

1°) La glucosamine administrée par voie orale aux rats ayant reçu un régime déséquilibré stéatogène, à la dose de 500 mg/kg/jour, possède une très nette action lipotrope.

2°) Lorsqu'on augmente la dose, cette action semble s'inverser.

3°) Chez les rats ayant reçu un régime alimentaire équilibré, normal, la glucosamine est sans action.

4°) Associée à la bétaïne, la glucosamine ne confère pas à celle-ci une potentialisation de son action lipotrope.

CHAPITRE TROISIEME

# ACTION HYPERGLOBULINISANTE DE LA GLUCOSAMINE

Au cours de l'étude sur l'action lipotrope de la glucosamine, décrite dans le chapitre précédent, l'électrophorèse des protéines pratiquée d'une manière systématique chez tous les animaux a révélé une donnée très intéressante : sous l'action de la glucosamine, les globulines augmentent.

Cette constatation, jointe à celle selon laquelle il existe une relation étroite entre la glucosamine ou ses dérivés et les réactions immunitaires de l'organisme, nous incite à rechercher une action hyperglobulinisante de la glucosamine, plus particulièrement une action hypergammaglobulinisante.

Cette étude est effectuée chez le Rat puis chez le Lapin.

## I. — EXPÉRIENCE CHEZ LE RAT

Nous avons utilisé deux groupes de six rats nourris à l'aide d'un régime équilibré préparé par nos soins (voir Chapitre premier).

Un groupe d'animaux ne reçoit pas de traitement et sert de témoins. Les animaux du deuxième groupe reçoivent tous les jours par sonde gastrique 500 mg/kg/jour de chlorhydrate de glucosamine.

L'électrophorèse des protéines sériques est pratiquée chez les rats des deux groupes avant le traitement, puis une fois tous les deux jours jusqu'au douzième jour, date à laquelle on arrête le traitement. Une analyse de contrôle est ensuite réalisée une semaine après l'arrêt du traitement.

Le sang des animaux appartenant à chaque groupe est prélevé après section caudale (0,2 ml environ sur chaque rat) et réuni dans un tube à centrifuger sans anticoagulant.

On prépare le sérum après centrifugation à 3 000 t/minute pendant 10 minutes et on procède à l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

Les valeurs centésimales de chaque fraction globulinique sont obtenues par densitométrie et mesure planimétrique.

## RESULTATS

Les variations des diverses fractions protéiques sériques au cours de l'administration par la glucosamine sont groupées dans le tableau V.

Sur la figure n° 9 nous représentons à titre d'exemple, les protéinogrammes obtenus avant le traitement et au douzième jour de traitement par la glucosamine chez les deux groupes de rats.

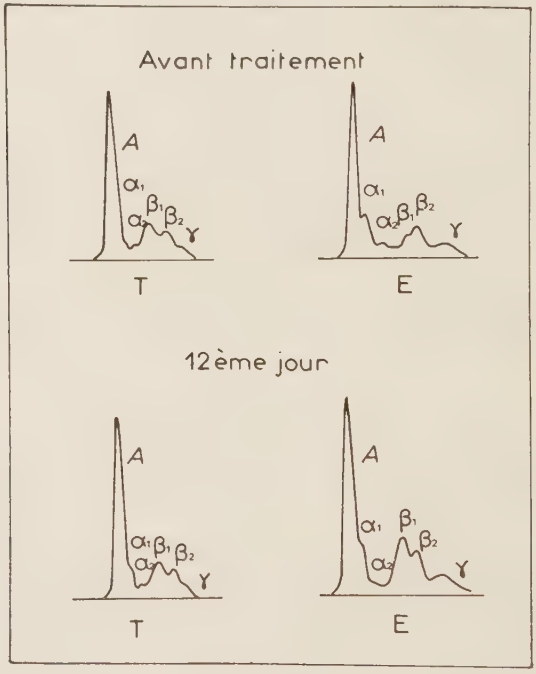



*Figure 9.*

Protéinogrammes réalisés chez les rats.

T : groupe témoin sans traitement
E : groupe traité par la glucosamine
A : albumine
α1 : α1 globulines
α2 : α2 globulines
β1 : β1 globulines
β2 : β2 globulines
γ : gammaglobulines

Tableau V

**Action de la glucosamine sur les valeurs centésimales des fractions protéiques du sérum de Rat**

| Temps en jours | Albumines | | $\alpha_1$ | | $\alpha_2$ | | $\beta$ | | $\gamma$ | | Globulines | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G | T | G |
| 0 | 42 | 53 | 17 | 5 | 8,5 | 6 | 10 | 20 | 10 | 14 | 58 | 47 |
| 2 | 43 | 50,5 | 17,5 | 4,5 | 9,5 | 5,5 | 11 | 26,5 | 11 | 13 | 57 | 49,5 |
| 4 | 43 | 40,5 | 17 | 13 | 7 | 11 | 5 | 23 | 5 | 13 | 57 | 59,5 |
| 6 | 47,5 | 38 | 15,5 | 17,5 | 6,5 | 9,5 | 4,5 | 24 | 4,5 | 11 | 52,5 | 62 |
| 8 | 45 | 38,5 | 13 | 14,5 | 7,5 | 12,5 | 10 | 23,5 | 10 | 11 | 55 | 61,5 |
| 12* | 46 | 35,5 | 19,5 | 16,5 | 8,5 | 7,5 | 1,5 | 37,5 | 1,5 | 3 | 54 | 64,5 |
| 20 | 43 | 39,5 | 14,5 | 17 | 7,5 | 7,5 | 8 | 29 | 8 | 7 | 57 | 60,5 |

T : animaux témoins non traités
G : animaux traités par la glucosamine 500 mg/kg/jour
* : arrêt du traitement

Les variations des différentes fractions globuliniques sont objectivées par les courbes de la figure n° 10.

Ces résultats permettent de constater les modifications sensibles des protéinogrammes.

Si l'on excepte la répartition des différentes fractions globuliniques ($\alpha_1$ globulines, $\alpha_2$ globulines, $\beta$ globulines et $\gamma$ globulines) difficiles à évaluer avec précision par le seul examen électrophorétique, pour ne tenir compte que de la somme globale des globulines, on remarque que celles-ci augmentent d'une manière notable.

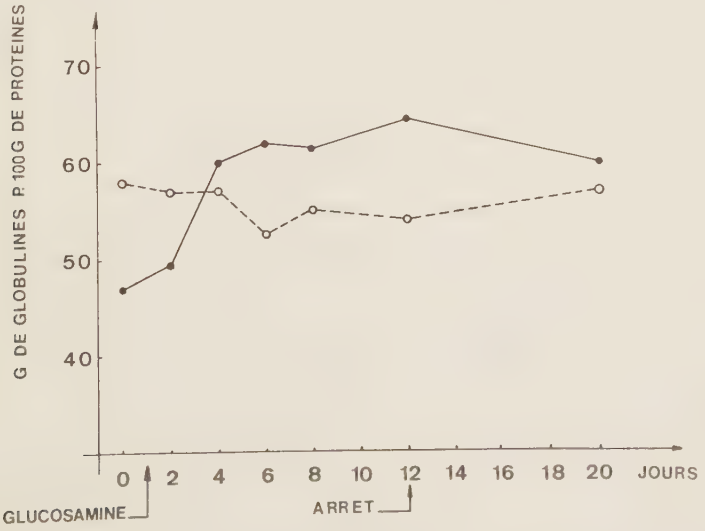



*Figure* 10.

Variations des globulines sériques sous l'action de la glucosamine chez le Rat.
●——● : animaux traités
○— — — —○ : animaux témoins.

Sous l'influence de la glucosamine il semble que cette augmentation porte essentiellement sur les β-globulines chez le Rat. Nous avons voulu confirmer ces données en opérant cette fois chez le Lapin car il est plus aisé d'obtenir des quantités convenables de sang en vue de l'analyse.

## II. — EXPÉRIENCE CHEZ LE LAPIN

Deux lapins « Fauve de Bourgogne » pesant 2,500 kg sont utilisés pour cette expérience. Ils ont reçu une alimentation normale composée de provendes (Aliments UAR pour Lapins).

### A. — Protéines sériques

Pendant les dix premiers jours, nous avons déterminé chez ces animaux le taux des protéines sériques totales et les différentes fractions protéiques par électrophorèse. Le sang (1 ml) a été prélevé par la veine marginale. Ces examens sont répétés tous les deux jours et nous ont permis de vérifier les constantes biologiques.

Ensuite les animaux reçoivent par voie orale tous les jours pendant six jours 500 mg/kg/jour de chlorhydrate de glucosamine. Le taux des protéines sériques et les protéinogrammes sont déterminés pendant cette période ainsi que pendant une période de huit jours qui suivent l'arrêt du traitement.

Le tableau VI et la figure n° 11 rapportent les résultats de ces déterminations.

Tableau VI

**Action de la glucosamine sur les protéines sériques du Lapin (moyenne sur deux animaux)**

| Analyses effectuées | Temps en jours | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 2 | 6* | 8 | 12 | 14 |
| Protidémie (g/) | 51,0 | 55,1 | 57,5 | 56,9 | 55,5 | 51,8 |
| Albumines (%) | 57,5 | 54,7 | 47,2 | 48,0 | 50,2 | 54,8 |
| α-globulines (%) | 12,2 | 12,8 | 15,8 | 13,2 | 10,2 | 12,7 |
| β-globulines (%) | 16,3 | 17,5 | 21,5 | 24,0 | 24,8 | 18,5 |
| γ-globulines (%) | 14,0 | 15,0 | 15,5 | 14,8 | 14,8 | 14,0 |
| Globulines (%) | 42,5 | 45,3 | 52,8 | 52,0 | 49,8 | 45,2 |
| Globulines totales (g/l) | 21,7 | 24,9 | 30,3 | 29,5 | 27,6 | 23,4 |

* Arrêt de traitement

L'examen de ces résultats fait ressortir l'augmentation sensible des protéines sériques sous l'influence de la glucosamine. Cette augmentation intéresse toutes les fractions globuliniques (α, β et γ-globulines) ; elle est plus marquée pour les β-globulines. Cette expérience de courte durée chez le Lapin permet de confirmer les résultats obtenus chez le Rat à savoir l'action hyperglobulinisante de la glucosamine.

Cette action est relativement durable puisque une semaine après l'arrêt du traitement (14e jour) les taux des protéines et des globulines sériques restent élevés par rapport aux taux initiaux.

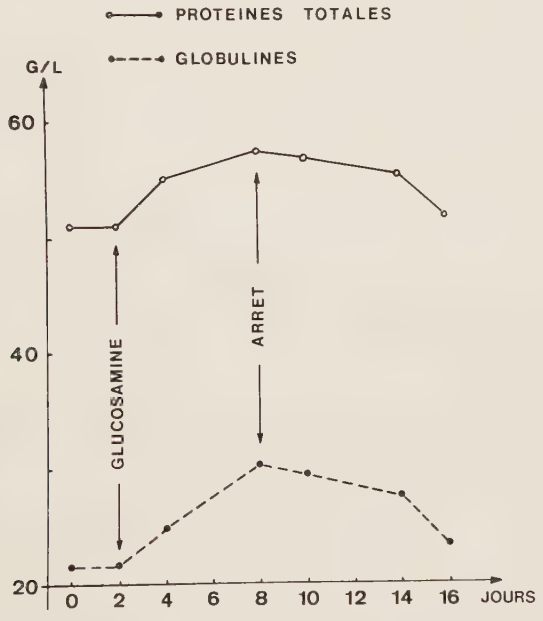



*Figure* 11.

Action de la glucosamine sur les protéines et les globulines sériques du Lapin.
Résultats exprimés en grammes par litre de sérum sanguin.

Cette expérience permet, en outre, de dégager un fait nouveau qu'il convient de souligner : l'augmentation nette des gamma-globulines chez le Lapin, induite par la glucosamine.

En effet, si nous considérons le pourcentage d'augmentation des gamma-globulines par rapport à leur taux initial, la courbe représentée sur la figure n° 12 illustre sans équivoque cette constatation.

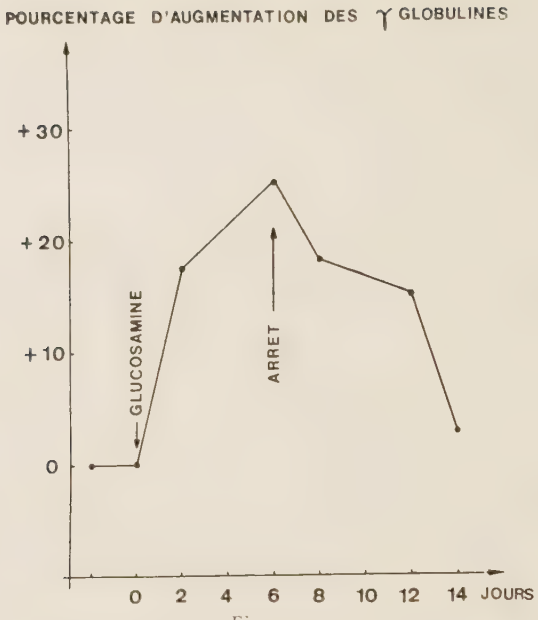



*Figure* 12.
Augmentation des gamma-globulines chez le Lapin sous l'action de la glucosamine.

## B. — Glucides sanguins

### Première expérience.

Au cours de cette expérience, nous avons déterminé, parallèlement aux analyses des protéines sériques, les teneurs en glucides du sang : les sucres protéiques définis par BERRY, la glycémie et les sucres faiblement liés. Cette détermination avait pour but de rechercher une corrélation entre les variations des globulines et celles des sucres protéiques, ces derniers représentant vraisemblablement la partie glucidique de ces glucoprotéines.

Les résultats de cette expérience sont groupés dans le tableau VII. La figure n° 13 permet de suivre les variations des glucides du sang.

Tableau VII

**Action de la glucosamine sur les glucides du sang de Lapin. Traitement de courte durée. Résultats moyens de deux lapins**

| Glucides (g/l) | Temps en jours | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 2 | 6* | 8 | 12 | 14 |
| Glycémie | 0,80 | 0,85 | 0,82 | 0,81 | 0,75 | 0,80 |
| Sucres faiblement liés | 1,55 | 0,22 | 0,66 | 0,10 | 0,40 | 0,40 |
| Sucres protéiques | 2,74 | 2,88 | 2,97 | 2,73 | 2,58 | 2,80 |

* Arrêt de traitement

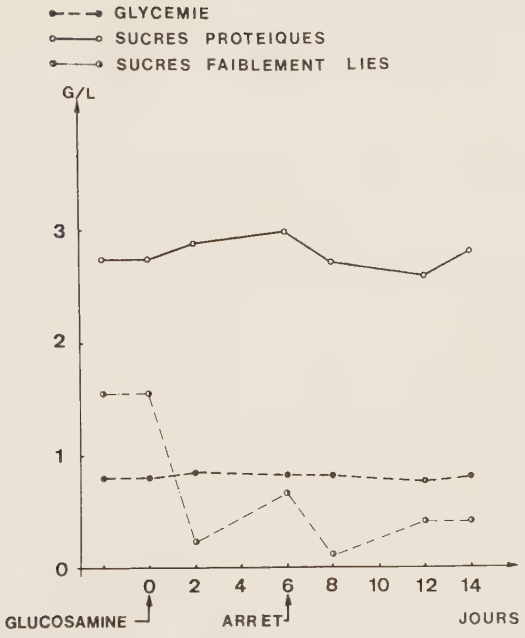



*Figure* 13.
Variations des glucides du sang sous l'influence de la glucosamine.

Il convient de noter en premier lieu que l'administration de la glucosamine pendant un temps relativement court n'affecte pas la glycémie du Lapin. Par contre, les sucres protéiques s'élèvent sous l'influence de cet hexosamine ; cette élévation, contrairement à celle des globulines, n'est pas durable puisque le taux des sucres protéiques redevient normal sitôt après l'arrêt du traitement.

Enfin, les variations du taux des sucres faiblement liés ne se prêtent pas à une interprétation sûre. Nous pensons que, étant donnée la nature même de ces sucres qui n'est pas tout à fait définie, ils constitueraient une réserve glucidique immédiatement utilisable et subissent des variations en fonction des besoins de l'organisme pour la bioformation du glucose ou des sucres protéiques.

En outre, il faut bien reconnaître que nous ne sommes pas à l'abri d'une erreur analytique possible, en raison même de la technique de dosage qui s'avère des plus délicates.

### Deuxième expérience

Nous avons répété l'expérience chez le Lapin en administrant cette fois la glucosamine pendant une période assez longue (vingt jours) dans

un double but : confirmer l'action de cet hexosamine sur les variations des glucides du sang et suivre cette action lorsque le traitement est de longue durée.

Deux lapins de 3 kg ont été utilisés pour cette expérience. Les teneurs en glucides sanguins sont déterminées avant tout traitement.

La glucosamine a été administrée par voie buccale tous les jours à raison de 500 mg/kg/jour (le chlorhydrate de glucosamine étant dissous dans le minimum d'eau et donné à boire aux animaux après une période de sevrage hydrique de 4 heures). Le traitement a duré 20 jours.

Les dosages des sucres sanguins sont effectués en général tous les quatre jours pendant toute la durée du traitement et se prolongent jusqu'au 10e jour après l'arrêt du traitement.

Le tableau VIII consigne les résultats de cette investigation.

Tableau VIII

**Action de la glucosamine sur les glucides sanguins de Lapin. Traitement de longue durée. Résultats moyens de deux lapins, exprimés en g de glucides par litre de sérum sanguin**

| Temps en jours | Glycémie | Sucres faiblement liés | Sucres protéiques |
|---|---|---|---|
| Avant traitement | | | |
| (0) | 1,02 | 0,15 | 2,03 |
| 4 | 1,05 | 0,82 | 2,02 |
| 11 | 1,04 | 0,10 | 1,81 |
| Glucosamine | | | |
| (13) | **0,89** | 0,40 | **2,69** |
| 16 | **0,78** | 0,13 | **2,78** |
| 20 | **0,70** | 0,25 | **2,80** |
| 25 | **0,84** | 0,30 | **3,96** |
| 28 | 0,94 | 0,33 | — |
| (32) arrêt | **0,78** | 0,17 | **2,65** |
| 35 | 0,97 | 0,23 | **2,50** |
| 39 | 0,80 | 0,32 | 2,20 |
| 42 | 0,90 | 0,35 | 2,10 |

Il est remarquable de noter que la glucosamine administrée pendant une période assez longue, exerce une influence notable sur la glycémie des lapins en dehors de celle déjà observée pour les sucres protéiques.

En effet, en suivant les courbes de variation des glucides du sang représentées sur la figure n° 14, nous pouvons constater une chute de la glycémie pendant toute la durée du traitement.

Les sucres protéiques augmentent d'une manière importante tandis que les sucres faiblement liés présentent des variations qui ne sont visibles que pendant la période qui précède le traitement.

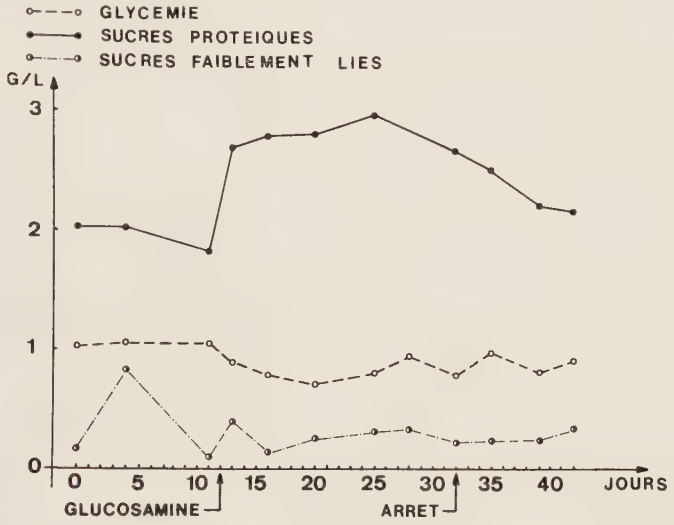



*Figure* 14.

Variations des glucides sanguins au cours du traitement de longue durée par la glucosamine chez le Lapin.

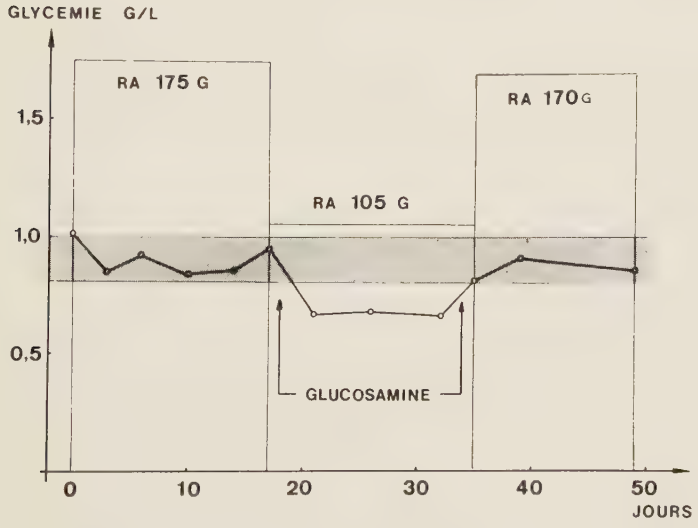



*Figure* 15.

Action de la glucosamine sur la ration alimentaire (RA) et sur la glycémie chez le Lapin.

Cette expérience nous a permis de confirmer pleinement l'action de la glucosamine sur les sucres protéiques. Elle montre, en outre, la baisse de la glycémie de base chez les animaux. Nous avons constaté, sans pour cela l'étudier d'une manière systématique, une diminution de leur ration alimentaire journalière.

## III. — CONCLUSIONS

Ce chapitre a été consacré à l'étude de l'action de la glucosamine sur les protéines du sérum sanguin. Cette étude a été conduite d'abord chez le Rat puis chez le Lapin.

Chez le Rat, une action hyperglobulinisante a été démontrée. Cette action a été confirmée chez le Lapin. De plus, nous avons démontré chez ce dernier que cette action intéresse les β-globulines et les γ-globulines.

Elle est en rapport avec l'augmentation des sucres protéiques du sang.

Enfin la glucosamine administrée pendant une longue période possède une légère action hypoglycémiante.

CHAPITRE QUATRIEME

# SUR L'ACTION ANOREXIGÈNE DE LA GLUCOSAMINE

Nous avons constaté au cours de l'expérience précédente que la baisse de la glycémie relevée pendant le traitement par la glucosamine coïncide avec une baisse de la ration alimentaire consommée par les lapins.

Nous avons voulu dans ce chapitre procéder à une étude systématique de cette observation afin de rechercher un rapport entre la diminution de la ration alimentaire et l'action hypoglycémiante.

A cet effet, deux lapins pesant chacun 2 kg ont été utilisés.

La glycémie a jeun a été déterminée dans des intervalles de temps allant de deux à quatre jours.

La nourriture (aliment UAR pour lapins) a été pesée tous les deux jours afin de connaître exactement la quantité consommée. L'eau a été donnée « ad libitum ».

Pendant les 18 premiers jours, les animaux ne sont pas traités. Du 18e au 34e jour, les animaux reçoivent tous les jours par voie orale 500 mg/kg/jour de chlorhydrate de glucosamine.

L'expérience se prolonge pendant les 15 jours qui suivent l'arrêt du traitement.

En suivant la glycémie moyenne des animaux et les quantités de nourriture consommée par ceux-ci grâce aux courbes de la figure n° 15, nous pouvons faire les constatations suivantes :

1°) La quantité de nourriture absorbée par les Lapins a considérablement diminué sous l'influence de la glucosamine puisqu'elle était en moyenne de 175 g d'aliments par animal et par jour avant le traitement et qu'elle est tombée à 105 g pendant toute la durée du traitement.

2°) Il est remarquable de noter que la ration alimentaire redevient pratiquement normale lorsque les animaux sont sevrés de glucosamine.

3°) Avec la diminution de la ration alimentaire, on assiste à une baisse de la glycémie (de 0,85 à 1,00 g par litre jusqu'aux environs de 0,66 g/litre), laquelle se rétablit lorsque la ration alimentaire elle-même se rétablit.

D'après ce que l'on sait, il semble logique de penser à une action anorexigène induite par la glucosamine. Elle se manifeste par une baisse de la consommation alimentaire et elle aurait pour conséquence une action hypoglycémiante.

Ces deux actions sont réversibles.

# EXAMEN D'ENSEMBLE DES RESULTATS ET CONCLUSIONS

Notre travail a été consacré à l'étude de quelques actions pharmacobiochimiques de la glucosamine.

Pendant très longtemps, l'activité biologique de cet hexosamine se résumait au fait de sa présence dans la constitution des substances d'une grande importance biologique : les glucolipides, les glucoprotéines et les glucosamino-glucanes.

Plus récemment, son rôle dans la biosynthèse de ces substances a été élucidé : l'incorporation de la glucosamine se fait après le stade initial de N-acétylation et c'est le nucléotide conjugué : l'uridine diphosphate N-acétyl-glucosamine qui est le transporteur actif de la N-acétyl-glucosamine.

A notre connaissance, peu de travaux ont été consacrés à l'étude pharmacologique proprement dite de cette substance.

Notre travail nous a conduit aux résultats suivants :

## A. — ACTION LIPOTROPE DE LA GLUCOSAMINE

La glucosamine possède une nette action lipotrope.

1°) Chez le Rat soumis à un régime alimentaire déséquilibré, riche en lipides et en glucides, pauvre en protéines, cette action se manifeste à la dose de 500 mg de glucosamine par kg de poids corporel et par jour. Elle est caractérisée par une normalisation des bilans lipidiques sérique et hépatique, lesquels sont sérieusement perturbés lorsque l'animal n'est pas traité.

2°) A partir de la dose de 500 mg/kg/jour, lorsqu'on augmente la dose de glucosamine, on assiste à une régression de l'action lipotrope jusqu'à son annulation à la dose de 1 000 mg/kg/jour.

3°) Chez le Rat ayant reçu une alimentation équilibrée, la glucosamine est sans action.

4°) Associée à la bétaïne, la glucosamine ne confère pas à celle-ci une potentialisation de l'action lipotrope.

L'action lipido-dispersante de la glucosamine, dont le caractère particulier est à souligner, pourrait s'expliquer de deux manières : — ou bien la glucosamine, grâce à la réaction d'acétylation nécessitant la présence d'acétylcoenzyme A comme donateur de groupement acétyl, diminuerait la teneur en acétylcoenzyme A abondamment formée au cours des surcharges lipidiques ou glucidiques et empêcherait la synthèse des acides gras et des glycérides ; — ou bien la glucosamine favoriserait la biosynthèse de l'héparine, laquelle possède une importante action lipido-dispersante. On sait, en effet, qu'au niveau du tissu conjonctif, la substance fondamentale est formée de mucoprotéines fortement polymérisées dont l'acide hyaluronique, l'acide mucoïtine-sulfurique et l'acide chondroïtine sulfurique sont les principaux représentants. Sous l'action de la hyaluronidase, on assiste à la dépolymérisation de ce complexe ; il s'ensuit une perte de cohésion du tissu conjonctif. L'héparine, qui présente des similitudes avec l'acide hyaluronique, renforce la cohésion du tissu conjonctif et augmente son imperméabilité, et empêche la surcharge lipidique.

## B. — ACTION HYPERGLOBULINISANTE DE LA GLUCOSAMINE

Chez le Rat et chez le Lapin, nous avons mis en évidence une action hyperglobulinisante de la glucosamine.

1°) Chez le Rat, cette action porte essentiellement sur la fraction bêta-globulinique.

2°) Chez le Lapin, la glucosamine administrée pendant une semaine par voie orale, provoque l'augmentation générale des globulines sériques, plus particulièrement des bêta et des gamma-globulines. Lorsqu'elle est administrée pendant une période plus longue (20 jours), l'action hyperglobulinisante se manifeste d'une manière plus durable et plus sensible, puisqu'elle se maintient pendant dix jours après l'arrêt du traitement.

3°) Parallèlement à l'augmentation des globulines sériques, on assiste à une augmentation des sucres protéiques.

Il est intéressant de rapprocher nos constatations à celles de Bierry et de West qui observent des variations sensibles du taux des glucides combinés, en particulier de la glucosamine au cours des affections très diverses. Les augmentations constatées ne seraient que la traduction d'une réponse de l'organisme à une agression non spécifique.

On peut alors penser qu'avec un apport exogène de la glucosamine, on assiste à une augmentation des gamma-globulines ce qui permettrait à l'organisme de se défendre contre l'infection. Cette donnée suggère d'intéressantes applications thérapeutiques de la glucosamine, utilisée soit seule, soit associée à d'autres agents anti-infectieux.

## C. — ACTION DE TYPE ANOREXIGÈNE DE LA GLUCOSAMINE

Chez le Lapin, l'administration de la glucosamine entraîne une baisse sensible de la quantité de nourriture ingérée par l'animal. Cette action de type anorexigène s'accompagne d'une baisse sensible de la glycémie de base.

La ration alimentaire ainsi que la glycémie redeviennent normales lorsque les animaux sont sevrés de glucosamine.

En résumé, nous avons démontré que la glucosamine administrée par voie orale, possède expérimentalement une action lipotrope notable, une action hyperglobulinisante très nette et une action de type anorexigène.

Ces différentes propriétés, qui, à notre connaissance, ne sont pas décrites jusqu'ici, permettent de découvrir la glucosamine sous un aspect nouveau.

D'intéressantes applications thérapeutiques pourraient être envisagées, notamment pour son action lipotrope et son action hypergammaglobulinisante.

Vu et approuvé
*Le Président du Jury :*
Professeur J.C. DUMAZERT.

Lu et approuvé
Marseille le 15 Décembre 1969.
*Pour le Doyen,*
*L'assesseur :*
Professeur Ch. GREBUS.

# BIBLIOGRAPHIE


1. — Becker (C.E.), Day (H.G.)
*J. Biol. Chem.* 1953, **201** : 795.

2. — Bierry (H.)
*C.R. Acad. Sci.* 1914, **158** : 278.

3. — Blumenthal (H.J.), Horowitz (S.T.), Hermeline (A.), Roseman (S.)
*Bacteriol. Proc.* 1955, **55** : 137

4. — Burson (S.L.), Fahrenbach (M.J.), Fommhagen (L.H.), Riccardi (B.A.), Brown (R.A.), Brockman (J.A.), Lewry (H.V.), Stockstad (E.L.R.)
*J. Am. Chem. Soc.* 1956, **78** : 5874.

5. — Cottet (J.), Enselme (J.), Lemaire (A.)
*La Presse Médicale*, 1957, **65** : 1899.

6. — Davidson (E.A.), Blumenthal (H.J.), Roseman (S.)
*J. Biol. Chem.* 1957, **226** : 125.

7. — Dorfman (A.), Roseman (S.), Moses (F.E.), Ludowieg (J.), Mayeda (M.)
*J. Biol. Chem.* 1955, **212** : 583.

8. — Dumazert (C.)
*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1935, **17** : 1163.

9. — Dumazert (C.), Penet (G.)
*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1938, **20** : 1211.

10. — Dumazert (C.), Lehr (H.)
*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1942, **24** : 1047.

11. — Dumazert (C.), Lehr (H.)
*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1943, **25** : 1326.

12. — Dumazert (C.), Marquet (J.)
*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1943, **25** : 1409.

13. — Elson (J.A.), Morgan (W.J.T.)
*Biochem. J.* 1933, **27** : 1824.

14. — Fischer (E.)
*Ber. d. d. Chem. Ges.* 1888, **21** : 884.

15. — Frank (H.), Lefort (M.), Martin (H.H.)
*Biochem. Biophys. Res. Commun*, 1962, **7** : 332.

16. — Gajdos (A.)
*C.R. Soc. Biol.* 1957, **151** : 1701.

17. — Glick (M.C.), Sall (T.), Zilliken (F.), Mudd (S.)
*Biochem. Biophys. Acta*, 1960, **37** : 361.

18. — Gregoire (J.), Gregoire (J.), Limozin (N.), Vovan (L.)
*C.R. Acad. Sci.* 1963, **257** : 3508.

19. — Hilker (D.M.), Kao (K.Y.T.), Bates (E.G.), McGavack (T.H.)
*Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 1961, **107** : 251.

20. — Kent (P.W.)
*J. Chem. Soc.* 1951, 364.

21. — Leloir (L.F.), Cardini (C.E.)
*Biochem. Biophys. Acta*, 1953, **12** : 15.

22. — Lowther (D.A.), Rogers (H.J.)
*Biochem. J.* 1956, **62** : 304.

23. — Lutwack Mann (C.)
*Biochem. J.* 1941, **35** : 610.

24. — Mariani (E.)
*Sucr. Belge* 1952, **71** : 373.

25. — Mitzimana Imaizumi
*J. Biochem.* 1937, **26** : 196.

26. — Morgan (W.J.T.), Elson (J.A.)
*Biochem. J.* 1934, **28** : 988.

27. — Pattabiraman (T.N.), Bachhawat (B.K.)
*Biochem. Biophys. Acta*, 1961, **54** : 273.

28. — Polonovski (C.), Colin (J.)
*Explorations biologiques en Pédiatrie* - Expansion Editeurs, Paris 1963.

29. — Pringsheim (H.), Rushmann (G.)
*Ber. d. d. Chem. Ges.* 1915, **48** : 680.

30. — Rieder (S.V.)
*Dissertation Abst.* 1953, **13** : 634.

31. — Roche (J.), Dumazert (C.)
*An. Inst. Océano.* 1939, **20** : 87.

32. — Roseman (S.), Moses (F.E.), Ludowieg (J.), Dorfman (A.)
*J. Biol. Chem.* 1954, **206** : 665.

33. — Roseman (S.), Davidson (E.A.), Blumenthal (H.J.), Dockrill (M.)
*Bacteriol. Proc.* 1958, **58** : 107.

34. — Solms (J.), Hassid (W.Z.)
*J. Biol. Chem.* 1957, **228** : 357.

35. — Sörensen (M.), Haugaard (G.)
*Biochem. Zeit.* 1933, **260** : 247.

36. — Spiro (R.G.)
*J. Biol. Chem.* 1959, **234** : 247.

37. — Spiro (R.G.)
*Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1959, **82** : 336.

38. — Topper (Y.J.), Lipton (M.M.)
*J. Biol. Chem.* 1953, **203** : 135.

39. — Wada (S.), Pallansch (M.J.), Liener (I.)
*J. Biol. Chem.* 1958, **233** : 395.

40. — West, (R.), Clark (D.M.), Kennedy
*J. Clin. Invest.* 1938, **17** : 173.

41. — Yachnin (S.), Gardner (F.H.)
*Brit. J. Haematol.* 1961, **7** : 464.

# TABLE DES MATIÈRES


Pages

INTRODUCTION ..... 15

I. Chimie de la glucosamine ..... 15

II. Biochimie de la glucosamine ..... 19

OBJET DU TRAVAIL ..... 29

TRAVAUX PERSONNELS ..... 31

CHAPITRE PREMIER. — Protocole expérimental et techniques utilisées .... 31
I. Matériel d'étude ..... 31
II. Régime alimentaire ..... 31
III. Techniques analytiques ..... 32

CHAPITRE DEUXIÈME. — Action de la glucosamine sur le bilan lipidique chez le Rat soumis à un régime stéatogène ..... 39
I. Recherche de la dose efficace ..... 39
II. Etude comparée de l'action de la glucosamine chez les rats soumis au régime stéatogène et chez les rats sains ..... 46
III. Association de la glucosamine avec la bétaïne ..... 47
IV. Conclusions ..... 51

CHAPITRE TROISIÈME. — Action hyperglobulinisante de la glucosamine .. 53
I. Expérience chez le Rat ..... 53
II. Expérience chez le Lapin ..... 56
III. Conclusions ..... 62

CHAPITRE QUATRIÈME. — Sur l'action anorexigène de la glucosamine .... 63

EXAMEN D'ENSEMBLE DES RESULTATS ET CONCLUSIONS ..... 65

BIBLIOGRAPHIE ..... 69

TABLE DES MATIERES ..... 71

Rosoy - Vincennes, 47, Avenue de Paris